

- REVISTA DE -

MEDICINA DE LABORATORIO

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 1 Núm. 3 | septiembre-diciembre 2020 | Págs. 83-141

Editorial

La Medicina de Laboratorio como concepto 83
M. R. Caro Narros, E. Rodríguez Borja, V. Morales Elípe, F. Bandrés Moya

Originales

Disfunción tiroidea inducida por alemtuzumab en pacientes con esclerosis múltiple 85

L. Tofan, A. Alba Redondo, M.ª L. Martínez Triguero, Ó. Fuster Lluch, M.ª I. Moreno Gambin, B. Casanova Estruch, B. Laiz Marro

Especificaciones mínimas de consenso de calidad analítica en España. Comparación con valores previos, preceptivos y de variabilidad biológica 93

E. Prada de Medio, Á. Molina Borrás, J. Alcaraz Quiles, J. Batista Castellví, F. R. Bauzá, Á. Salas García, J. Morancho Zaragoza

Revisiones

RAD51C y *RAD51D* en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario 108

A. I. Sánchez Bermúdez, M.ª D. Sarabia Meseguer, V. Guardiola Castillo, F. Ruiz Espejo, J. A. Noguera Velasco

Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, otra enfermedad emergente 120

Á. San Miguel, J. M.ª Eiros Bouza

Casos Clínicos

Doble heterocigosis hemoglobina S, C o D y beta-talasemia en una serie de tres casos 127

M.ª A. Molina-Arrebola, Á. M. Alba-Sosa, J. Ruiz-Cara, S. J. Guardia-Alés, C. Avívar-Oyonarte

Daño miocárdico en niño de 5 años con sospecha de COVID-19 132

A. Pozo Giráldez, Á. Moreno Palomino, C. Martínez Camarasa, F. Núñez Gómez, A. Carratalá Calvo

Entrevistas/Podcast

La selección de equipamiento en un laboratorio "CORE" 135
E. Rodríguez Borja

©AEBM-ML (2020)
©AEFA (2020)
©Arán Ediciones, S.L. (2020)

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-14367-2020

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

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.

www.revistamedicinadelaboratorio.es



Equipo Directivo

DIRECTOR

Dr. Fernando Bandrés Moya
(Universidad Complutense de Madrid, Madrid)
bandres@ucm.es

EDITORA JEFE

Dra. M.^a del Rosario Caro Narros
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)
rcaro@saludcastillayleon.es

EDITORES

Dr. Vicente Morales Elípe
(Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real)
vmelipe@sescam.jccm.es

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

Editores Asociados

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

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

Rodríguez Triguero M.^a Luisa
(Hospital Universitari i Politècnic La Fe)
martinez_mlutri@gva.es

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

San Miguel Hernández, Ángel
(Hospital Univ. Río Hortega, Valladolid)
asanmi@saludcastillayleon.es

Consejo Asesor

Dr. 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

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

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

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

Dr. 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

Prof. 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

Dr. Franklim 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

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

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

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

Prof. 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



Santiago Prieto Menchero

**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. 1 Núm. 3 | septiembre-diciembre 2020

Sumario

Editorial

La Medicina de Laboratorio como concepto 83
M. R. Caro Narros, E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, F. Bandrés Moya

Originales

Disfunción tiroidea inducida por alemtuzumab en pacientes con esclerosis múltiple 85
L. Tofan, A. Alba Redondo, M.ª L. Martínez Triguero, Ó. Fuster Lluch, M.ª I. Moreno Gambin, B. Casanova Estruch, B. Laiz Marro

Especificaciones mínimas de consenso de calidad analítica en España. Comparación con valores previos, preceptivos y de variabilidad biológica 93
E. Prada de Medio, Á. Molina Borrás, J. Alcaraz Quiles, J. Batista Castellví, F. R. Bauzá, Á. Salas García, J. Morancho Zaragoza

Revisiones

RAD51C y RAD51D en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario ... 108
A. I. Sánchez Bermúdez, M.ª D. Sarabia Meseguer, V. Guardiola Castillo, F. Ruiz Espejo, J. A. Noguera Velasco

Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, otra enfermedad emergente 120
Á. San Miguel, J. M.ª Eiros Bouza

Casos Clínicos

Doble heterocigosis hemoglobina S, C o D y beta-talasemia en una serie de tres casos 127
M.ª A. Molina-Arrebola, Á. M. Alba-Sosa, J. Ruiz-Cara, S. J. Guardia-Alés, C. Avivar-Oyonarte

Daño miocárdico en niño de 5 años con sospecha de COVID-19 132
A. Pozo Giráldez, Á. Moreno Palomino, C. Martínez Camarasa, F. Núñez Gómez, A. Carratalá Calvo

Entrevistas/Podcast

La selección de equipamiento en un laboratorio "CORE" 135
E. Rodríguez Borja



- REVISTA DE -
**MEDICINA DE
LABORATORIO**

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 1 No. 3 | September-December 2020

Summary

Editorial

Laboratory Medicine as a concept 83
M. R. Caro Narros, E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, F. Bandrés Moya

Originals

Thyroid dysfunction induced by alemtuzumab in patients with
multiple sclerosis 85
*L. Tofan, A. Alba Redondo, M.ª L. Martínez Triguero, Ó. Fuster Lluch,
M.ª I. Moreno Gambin, B. Casanova Estruch, B. Laiz Marro*

Minimum analytical quality consensus specifications in Spain.
Comparison with previous, mandatory and biological variability values 93
*E. Prada de Medio, Á. Molina Borrás, J. Alcaraz Quiles, J. Batista Castellví,
F. R. Bauzá, Á. Salas García, J. Morancho Zaragoza*

Reviews

RAD51C and *RAD51D* in the hereditary breast and
ovarian cancer syndrome 108
*A. I. Sánchez Bermúdez, M.ª D. Sarabia Meseguer, V. Guardiola Castillo,
F. Ruiz Espejo, J. A. Noguera Velasco*

Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, another emerging disease 120
Á. San Miguel, J. M.ª Eiros Bouza

Case Reports

Double heterozygosity hemoglobin S, C or D and beta-thalassemia
in a series of three cases 127
*M.ª A. Molina-Arrebola, Á. M. Alba-Sosa, J. Ruiz-Cara, S. J. Guardia-Alés,
C. Avivar-Oyonarte*

Myocardial injury in 5 years old child with COVID-19 suspected 132
*A. Pozo Giráldez, Á. Moreno Palomino, C. Martínez Camarasa, F. Núñez Gómez,
A. Carratalá Calvo*

Interviews/Podcast

Selection of equipment in a clinical CORE laboratory 135
E. Rodríguez Borja



La Medicina de Laboratorio como concepto

Laboratory Medicine as a concept

Podemos asegurar que la pandemia provocada por el SARS-CoV-2, COVID-19, ha permitido que el laboratorio clínico irrumpa, de nuevo, en la asistencia sanitaria desde un perfil conceptual, consolidado hace tiempo, que denominamos "Medicina de Laboratorio".

Se imagina, amigo lector, que en esta pandemia, la Medicina de Laboratorio hubiera respondido con el ritmo, lento e impreciso, que nos han presentado los diferentes modelos de gestión sanitaria o las erráticas decisiones aportadas desde las políticas de salud. Hubiera sido un desastre de incalculables dimensiones.

En un primer análisis crítico, entendido el vocablo como la acción de separar para analizar, la pandemia ha puesto de manifiesto nuestras debilidades, falta de habilidad, en la gobernanza, el liderazgo, el manejo de la información y la toma de decisiones. Por el contrario se han evidenciado fortalezas, como las que resultan de la tecnología sanitaria y la de un potencial humano que ejerce desde el más riguroso profesionalismo. Esta crisis deberá ser analizada con rigor, aplicando la inteligencia y el pensamiento crítico para ser capaces de obtener un juicio claro y objetivo, única forma de poder elaborar, desde la crítica, nuevos criterios.

La Medicina de Laboratorio, con su tecnología especialmente avanzada, ha sido capaz de responder haciendo posible la incorporación de un número progresivo de biomarcadores que, con rigor, pertinencia y celeridad, permitían estratificar a los pacientes COVID-19, informar y asesorar a los responsables clínicos respecto de la mejor decisión diagnóstica y opciones terapéuticas, incluso asignar de manera ordenada los recursos asistenciales en aras de una gestión clínica eficiente. Transitamos pues hacia una nueva forma de ejercer la medicina clínica que precisa acercarnos al concepto de *Medicina de Laboratorio*, en el nuevo contexto biotecnológico y tecnocientífico marcado por la biología de sistemas y la digitalización.

Concepto que tiene que ver con concebir, unir dos o más realidades -en nuestro caso Medicina y Laboratorio-, para dar lugar a una realidad distinta. El concepto es una forma de entendimiento que explica y resume nuestra experiencia, razonamiento e imaginación, surge de la información, a la que da sentido. Los conceptos renovados nos suelen enviar mensajes por adelantado y cuando se reúnen de manera ordenada y coherente suelen determinar un cambio de paradigma. El concepto *Medicina de Laboratorio*, nos obliga recordar algunos orígenes etimológicos, pues la medicina, arte de precaver, prevenir un riesgo, daño o peligro y curar las enfermedades del cuerpo humano, proviene de *meder-eris (mederi)*, que significa, medicar, curar y cuidar. La raíz *med* se relaciona también con meditar y con medir, no solo en el sentido de cantidad sino también de moderación, por eso quien está lleno de medida es también modesto. Junto a las virtudes reseñadas conviven la curiosidad científica, el deseo de encontrar la verdad y la humildad, características fundamentales del pensamiento crítico.

La otra realidad, el *Laboratorio*, es una palabra que nos refiere la existencia de un lugar (*orio*) que dispone de la instrumentación necesaria para realizar trabajos (*labor*) científicos u operaciones técnicas. El término *Clínico*, tiene que ver, en su evolución grecolatina, con inclinarse y con cama. Clínico sería pues quien se acerca a la cama del paciente y se inclina para hacer la anamnesis y la exploración, momento en el que también se ejerce la Medicina de Laboratorio, como dijera Georges P. Dieulafoy (1839-1911):

"Clínica es lo que hacemos todos los días cuando practicamos el análisis de sangre, de la orina, cuando ponemos al servicio del diagnóstico el termómetro, el microscopio, el laringoscopio, el oftalmoscopio y otros medios de contraprueba y análisis. La clínica toma para sí todo lo que encuentra, todos los métodos de investigación aumentan su patrimonio, y su dominio se extiende día a día."

Entre ambos términos se encuentra la preposición *de*, parte invariable de la oración cuya misión es establecer la relación entre dos palabras o términos para construir la *Medicina de Laboratorio*. No debemos olvidar que esta preposición indica y refiere procedencia, dirección, destino, pertenencia, origen, cualidad o condición, características que nos hacen pensar en la pertenencia del laboratorio clínico a la medicina, incluso considerar que parte la materia de la que está hecha la medicina del siglo XXI es consecuencia de una nueva relación con la fisiopatología, que venimos denominando *Biopatología*.

La Medicina de Laboratorio es un área de conocimiento que se nutre de la tecnociencia, término híbrido que resulta de la pérdida o rotura de la frontera tradicional entre *episteme*, ciencia *pensada*, a manera de conocimiento puro o básico, con la *techné*, que sería la ciencia aplicada, *vivida*. La tecnociencia es una nueva manera de mirar el conocimiento científico, sería la ciencia, *el saber*, desde la "instrumentalidad" que, a su vez, vive marcada por la innovación. Una nueva realidad fisiopatológica y clínica surge con la aplicación de los conocimientos que aporta la Medicina de Laboratorio, desde su biopatología fundamental y aplicada, así como su tecnociencia.

La Medicina de Laboratorio es un nuevo concepto pues está asentado en la nueva realidad del acto sanitario que ya no es solo asistencial, sino que es también investigador y docente, orientado por la brújula de la gestión. Por ello *la experiencia COVID-19* va a permitir acelerar el proceso de integración del Laboratorio Clínico en el ejercicio de la Medicina, pues, digitalización, inteligencia artificial, salud móvil, nanotecnología o robotización, entre otras, serán nuevas palabras clave, capaces de generar a su vez nuevos conceptos para ejercer la medicina del siglo XXI en términos de calidad y excelencia. La obsolescencia tecnológica, la relación entre prestadores, reguladores e innovadores, la cultura de seguridad y el profesionalismo serán las amenazas, a la par que grandes retos.

Todas estas razones fundamentales, entre otras muchas, justifican la existencia de nuestra revista, pues estamos ante una ciencia particular y multidisciplinar, *la Medicina de Laboratorio*, que, desde su transversalidad, tiene como misión y responsabilidad medir y valorar el estado de la sístole y la diástole de los futuros modelos de asistencia sanitaria.

Fernando Bandrés Moya, Vicente Morales Elipe,
Enrique Rodríguez Borja y María del Rosario Caro Narros
Directores de la *Revista de Medicina de Laboratorio*



Original

Disfunción tiroidea inducida por alemtuzumab en pacientes con esclerosis múltiple

Thyroid dysfunction induced by alemtuzumab in patients with multiple sclerosis

Luiza Tofan¹, Amparo Alba Redondo¹, M.^a Luisa Martínez Triguero¹, Óscar Fuster Lluch¹, M.^a Isabel Moreno Gambin², Bonaventura Casanova Estruch² y Begoña Laiz Marro¹

¹Servicio de Análisis Clínicos y ²Servicio de Neurología. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Valencia

Recibido: 23/09/2020
Aceptado: 07/12/2020

Correspondencia: Luiza Tofan. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Avinguda de Fernando Abril Martorell, 106. 46026 Valencia
e-mail: tofan_lui@gva.es

Palabras clave:

Alemtuzumab. Esclerosis múltiple.
Alteraciones tiroideas. Enfermedad de Graves. Autoinmunidad.

RESUMEN

Introducción: alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal anti-CD52 (*CD: cluster of differentiation*) utilizado en el tratamiento de los pacientes con esclerosis múltiple. Entre sus posibles efectos adversos destaca el riesgo de desarrollo de disfunción tiroidea. El objetivo de este trabajo fue conocer la frecuencia de alteraciones tiroideas tras inicio del tratamiento e identificar factores de riesgo para la enfermedad tiroidea.

Material y métodos: se realizó un estudio retrospectivo, observacional, descriptivo de una serie de casos que incluyó a todos los pacientes con esclerosis múltiple que recibieron tratamiento con alemtuzumab desde 2015 hasta 2019 en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia.

Resultados: se incluyeron en el estudio 43 pacientes. El 40 % de los pacientes tratados (17 de 43) presentaron algún tipo de enfermedad tiroidea; 8 casos desarrollaron enfermedad de Graves, 2 de ellos con variante fluctuante, 3 casos tiroiditis Hashimoto, 2 casos hipotiroidismo, 2 casos hipotiroidismo subclínico transitorio, 1 caso hipertiroidismo sin anticuerpos antirreceptor de TSH (tirotropina) y 1 caso control difícil del tratamiento sustitutivo con levotiroxina tras la administración del alemtuzumab, con una relación tiempo dependiente entre el inicio del tratamiento y el desarrollo de la enfermedad tiroidea. El 75 % de los pacientes presentaron el primer episodio de disfunción tiroidea dentro de los dos primeros años posadministración de la primera dosis de alemtuzumab.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00050

Tofan L, Alba Redondo A, Martínez Triguero ML, Fuster Lluch O, Moreno Gambin MI, Casanova Estruch B, Laiz Marro B. Disfunción tiroidea inducida por alemtuzumab en pacientes con esclerosis múltiple. Rev Med Lab 2020;1(3):85-92

Conclusión: ante el alto riesgo de desarrollo de enfermedad tiroidea tras tratamiento con alemtuzumab se debería de realizar un cribado y seguimiento de la función tiroidea para un control eficaz de los posibles eventos adversos que puedan ocurrir en la evolución de estos pacientes.

Keywords:

Alemtuzumab. Multiple sclerosis.
Thyroid dysfunction. Graves' disease.
Autoimmunity.

ABSTRACT

Introduction: alemtuzumab is a monoclonal antibody anti-CD52 (CD: cluster of differentiation) used for the treatment of patients with multiple sclerosis. Among its possible adverse effects stands out the risk of developing thyroid dysfunction. The purpose of this study was to find out the frequency of thyroid alterations post-treatment and identify risk factors for thyroid disease.

Methods: a retrospective, descriptive study of a case series was carried out that included all patients with multiple sclerosis who received treatment with alemtuzumab in the last 5 years at the Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia (Spain).

Results: 43 patients were included in the study. Forty per cent of the treated patients (17 of 43) developed some sort of thyroid dysfunction: 8 cases developed Graves' disease, 2 of these with fluctuating variant, 3 cases thyroiditis Hashimoto, 2 cases hypothyroidism, 2 cases subclinical hypothyroidism, 1 case hyperthyroidism without anti-TSH receptor antibody and 1 difficult control of substitutive treatment with levothyroxine after initiating alemtuzumab, with time-dependent relation between the onset of treatment and the progression to impaired thyroid function. Seventy-five per cent of the cases of thyroid disease appeared after 2 years following the first dose.

Conclusion: faced with the high risk of developing thyroid disease after treatment with alemtuzumab, initial screening and cautious analytical follow-up of the thyroid function should be performed in order to obtain an effective control of the possible adverse events that may occur in the evolution of these patients.

INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple es una enfermedad crónica, progresiva que afecta el sistema nervioso central a través de un proceso inmunomediado en el que existe una respuesta anormal dirigida contra la mielina, las células productoras de mielina y las fibras nerviosas. En la zona afectada se produce una inflamación local con destrucción nerviosa que con el tiempo acaba remodelándose, desarrollando tejido cicatricial que da el nombre a la enfermedad: múltiples áreas de cicatrización o esclerosis múltiple (1).

Su tratamiento consiste en la administración de fármacos para controlar el brote como los corticoides en alta dosis y fármacos modificadores de la enfermedad como el interferón-beta o el acetato de glatiramer, entre los más frecuentes (1).

Alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que inicialmente se utilizó como tratamiento de los pacientes con leucemia linfocítica crónica B y que desde 2013 está aprobado para el tratamiento de pacientes adultos con esclerosis múltiple remitente recurrente (EMRR), con enfermedad activa definida

por manifestaciones clínicas o detectadas por resonancia magnética. Su diana terapéutica es CD52, una proteína presente en la superficie celular de la gran mayoría de las células linfoides y muchas otras células hematopoyéticas, pero no en las células *stem* de la médula ósea. Por ese motivo presenta una función depleitiva linfocitaria periférica con efecto inmunomodulador que conduce a una renovación de dicha población celular con un aumento de las células T reguladoras (2).

Es una medicación no exenta de algunos efectos secundarios, entre los cuales se han descrito reacciones a su infusión, infecciones y enfermedades tiroideas. Sin embargo, la mayoría de las publicaciones que describen dichas alteraciones tiroideas son estudios con series cortas de pacientes y que muestran una frecuencia variable de aparición, entre 20-50 % (3-5).

El mecanismo a través del cual se producen estas alteraciones no está esclarecido, aunque la autoinmunidad en contexto de linfopenia es una entidad bien conocida, interviniendo factores autoinmunes y una cierta predisposición genética. Se ha especulado también la posibilidad de que ocurra una rotura de la tole-

rancia inmunológica durante el periodo de repoblación linfocitaria dado que la cinética de la recuperación linfocitaria es diferente en función de cada subpoblación celular lo que conlleva a un trastorno en la inmunidad adaptativa (6).

Por todo ello, el objetivo de nuestro estudio fue analizar la frecuencia de la afectación tiroidea y describir las características clínicas y paraclínicas en pacientes con esclerosis múltiple tratados con alemtuzumab en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Se realizó un estudio retrospectivo, observacional, descriptivo de una serie de casos. La población estudiada estuvo constituida por todos los pacientes con esclerosis múltiple tratados con alemtuzumab, en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, desde 2014 hasta 2019. El estudio cumplió con los edictos de la Declaración de Helsinki y con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Universitari i Politècnic La Fe. No se requirió el consentimiento informado de los pacientes dado el carácter retrospectivo observacional del estudio. El criterio de inclusión fue pacientes adultos mayores de 18 años diagnosticados de esclerosis múltiple cuyo tratamiento consistió en la administración diaria intravenosa de alemtuzumab, en dosis de 12 mg en ciclos anuales (5 días para el primer ciclo, 3 días para los ciclos posteriores). Se excluyeron del estudio los pacientes que habían iniciado el tratamiento con alemtuzumab en los últimos 8 meses previos a la revisión de datos.

Recogida de datos

Se recogieron datos demográficos, clínicos y analíticos a partir de las historias clínicas y el sistema de información del laboratorio. Las variables que se consideraron para el estudio fueron: fecha de nacimiento, sexo, hábitos tóxicos, fecha de diagnóstico y tipo de esclerosis múltiple, tipo de tratamiento previo para la esclerosis múltiple, fecha de la evaluación hormonal analítica pretratamiento con alemtuzumab, fecha de inicio y fin de tratamiento con alemtuzumab, número de ciclos recibidos de alemtuzumab y dosis, fecha del primer brote tras el tratamiento con alemtuzumab y presencia de progresión, fecha de la primera alteración de tirotrópina (TSH) postratamiento y tipo de enfermedad tiroidea desarrollada, evolución de la misma, si hubo necesidad de tratamiento para la enfermedad tiroidea y tipo de tratamiento empleado, recuento de linfocitos basales, mínimo de linfocitos alcanzado y fecha de la última evaluación analítica hormonal realizada en el laboratorio.

Perfil tiroideo de estudio

Antes del inicio del tratamiento se evaluó el perfil analítico tiroideo con TSH y para el seguimiento se realizaron extracciones seriadas trimestrales, que incluyeron TSH y tiroxina libre (T4I), con posibilidad de ampliación del estudio con triyodotironina libre (T3I) y marcadores serológicos tipo anticuerpos antiperoxidasa (anti-TPO), anticuerpos antitiroglobulina (anti-TG) o anticuerpos antirreceptor de TSH (anti-TRAc) en los casos con resultados patológicos del perfil de seguimiento. La determinación de TSH, T4I, T3I, anti-TPO y anti-TG se realizó mediante un inmunoensayo quimioluminiscente con los analizadores COBAS e602 y e801 (Roche), Los anticuerpos anti-TRAc se determinaron por quimioluminiscencia en un analizador Maglumi 2000 (Snibe Diagnostics).

Definición de la disfunción tiroidea

Definimos como disfunción tiroidea el perfil analítico con al menos 2 valores patológicos de TSH. Los tipos de afectación tiroidea que clasificamos fueron:

- *Hipotiroidismo subclínico transitorio*: TSH superior al valor de referencia en más de 2 ocasiones con concentraciones de T4I en el intervalo de referencia.
- *Hipotiroidismo franco*: TSH superior al valor de referencia con T4I inferior al valor de referencia.
- *Tiroiditis*: tirotoxicosis seguida por eutiroidismo espontáneo o hipotiroidismo, con anti-TRAc negativos, hipotiroidismo con anti-TPO positivos.
- *Enfermedad de Graves*: hipertiroidismo (TSH suprimido (< 0,01 mU/L) con o sin T4I o T3I superior al valor de referencia, junto con anti-TRAc positivos).
- *Enfermedad de Graves fluctuante*: enfermedad de Graves con fluctuaciones inesperadas de hipotiroidismo a hipertiroidismo o al revés, que no se puede explicar por el tratamiento, omisiones o cambios en el régimen terapéutico.
- *Hipertiroidismo autoinmune sin anti-TRAc*: (TSH suprimido (< 0,01 mU/L) con o sin T4I o T3I superior al valor de referencia, junto con anti-TPO o anti-TG positivos).
- *Control difícil posttiroidectomía*: paciente con antecedentes de tiroidectomía con presencia de restos tiroideos que inicia difícil control del tratamiento sustitutivo postratamiento con alemtuzumab.

Tiempo de seguimiento

Definimos tiempo de seguimiento como el periodo transcurrido entre el inicio del tratamiento con alemtuzumab y la última evaluación analítica realizada en el laboratorio.

Análisis estadístico

La asociación entre variables continuas se realizó con el test U de Mann-Whitney y se describen utilizando la mediana y rango intercuartílico (RIQ). Las variables categóricas se compararon mediante el test de chi-cuadrado y se describen mediante número y porcentaje. La probabilidad de desarrollo de enfermedad tiroidea se calculó mediante el análisis de Kaplan-Meier desde la fecha de inicio del tratamiento hasta la fecha de desarrollo de la patología tiroidea o última fecha de seguimiento. El software empleado para el estudio estadístico fue SPSS versión 19 y se consideró como nivel de significación un valor $p < 0,05$.

RESULTADOS

Población de estudio: se incluyeron en el estudio un total de 43 pacientes, 34 mujeres (79 %) y 9 hombres (21 %), con una mediana de edad al inicio del tratamiento con alemtuzumab de 36 años (RIQ 18-57). Todos los pacientes que tenían una analítica previa al inicio del tratamiento con alemtuzumab presentaban concentraciones de TSH dentro del intervalo de referencia. En 5 casos no dispusimos de datos analíticos previos y en las historias clínicas tampoco se especificaban antecedentes de enfermedad tiroidea, salvo en un paciente con antecedentes de tiroidectomía con presencia de restos tiroideos en tratamiento sustitutivo con levotiroxina, pero con niveles de TSH estable.

La mayoría de los pacientes (83,7 %) había recibido tratamiento previo para la esclerosis múltiple, con una mediana de 2 tipos (RIQ 1-5). Los 2 tipos más frecuentes de tratamiento previo fueron el acetato de glutiramero y los corticoides sistémicos. Para 7 de los pacientes, alemtuzumab fue la primera indicación de tratamiento.

La mediana del tiempo del seguimiento fue de 36 meses con un RIQ de 24-47 meses. Un paciente se perdió del seguimiento clínico y analítico, sin alteración tiroidea al final de los 13 meses de monitorización. En el resto de los casos la mediana del tiempo desde la última evaluación analítica hasta la revisión de la alteración tiroidea fue de 26 días (RIQ 15-41). La mediana del tiempo transcurrido desde la última administración hasta la revisión de datos fue de 23 meses (RIQ de 14-36 meses). El 86 % de los pacientes recibieron 2 ciclos de tratamiento con alemtuzumab y el resto recibieron 1 o 3 ciclos.

La mediana de días transcurridos entre la evaluación hormonal inicial y el inicio del tratamiento con alemtuzumab fue 45 días (RIQ 36-54). Cabe destacar que para 36 de los pacientes la evaluación hormonal se realizó 60 días previos al tratamiento y para 2 pacientes se realizó 124 y 592 días previos al tratamiento.

Registramos un total de 17 (40 %) pacientes que desarrollaron disfunción tiroidea postratamiento. La proporción de la afectación tiroidea por sexo fue de 47 % (16 de 34) en mujeres y 11 % (1 de 9) en el caso de los hombres (Fig. 1).

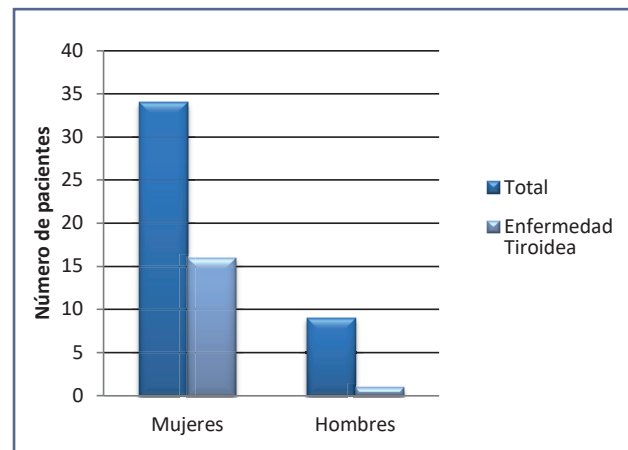


Figura 1 – Afectación tiroidea por sexo.

La causa más frecuente de patología tiroidea postratamiento con alemtuzumab fue la enfermedad de Graves (6 pacientes), seguida por la tiroiditis Hashimoto (3 pacientes) y el hipotiroidismo (2 pacientes). Dos pacientes también presentaron enfermedad de Graves fluctuante, un tipo particular de afectación tiroidea y otros 2 hipotiroidismo transitorio. Encontramos un caso de hipertiroidismo autoinmune sin anti-TRAc y un caso con patología previa tiroidea en que se describió un control difícil terapéutico, con niveles inestables del perfil tiroideo (Fig. 2).

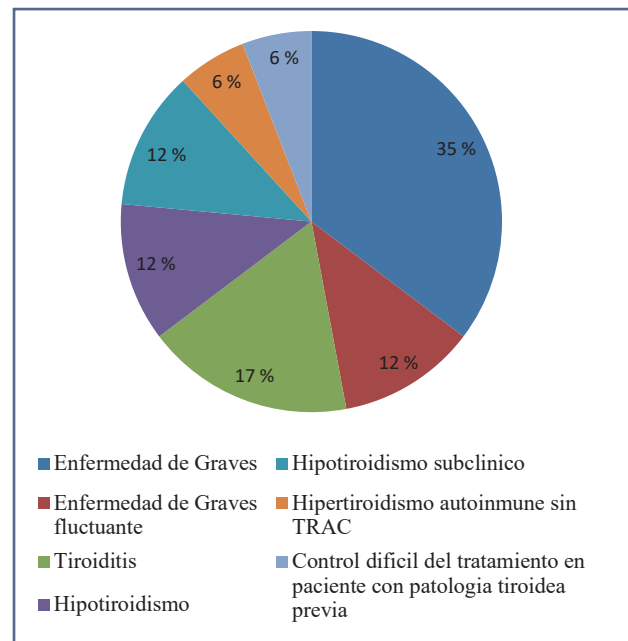


Figura 2 – Distribución según la etiología de la enfermedad tiroidea.

La mediana del tiempo hasta el desarrollo de la enfermedad tiroidea fue de 352 días (12 meses) con un RIQ de 268-723 días (9-24 meses). La mayoría de los pacientes desarrollaron disfunción tiroideas en los primeros 13 meses (75 %) (Fig. 3).

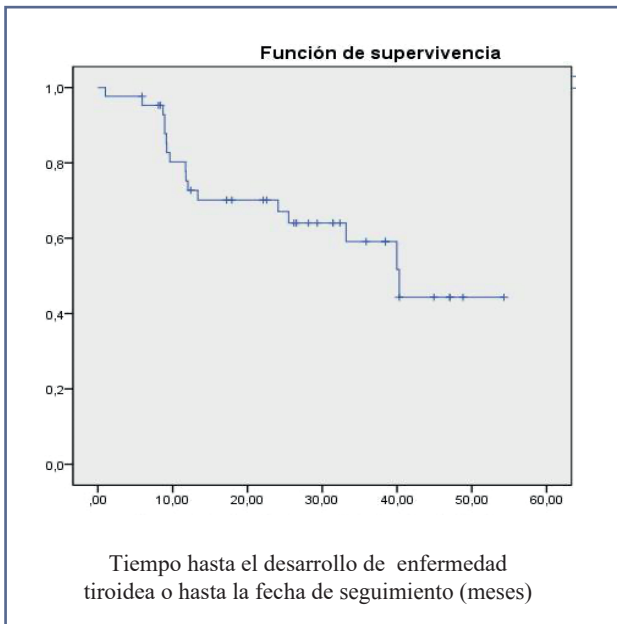


Figura 3 – Distribución según el tiempo de desarrollo de la enfermedad tiroidea.

En cuanto al estudio serológico, todos los pacientes presentaron por lo menos un tipo de anticuerpo positivos anti-TPO, anti-TG o anti-TRAc. En 11 casos de 17 obtuvimos anticuerpos anti-TRAc positivos: 8 casos de enfermedad de Graves, 1 caso de tiroiditis de Hashimoto, 1 caso de hipotiroidismo y 1 caso de un paciente con antecedentes de tiroidectomía por bocio multinodular, con restos tiroideos tras la intervención, que tras el tratamiento con alemtuzumab se mantuvo eutiroides pero con difícil control terapéutico con tiroxina.

En la tabla I se presenta un resumen con las características analíticas basales antes del inicio de tratamiento con alemtuzumab y los valores analíticos postratamiento en el momento en que desarrollaron enfermedad tiroidea.

Todos los pacientes menos los que presentaron hipotiroidismo subclínico transitorio requirieron tratamiento (15 de 17). En el momento del estudio 10 de los pacientes estaban con tratamiento. A un paciente se le propuso la tiroidectomía como tratamiento definitivo del hipertiroidismo debido al desarrollo de neutropenia grave por el tratamiento con anti-tiroideos.

En el momento de la revisión, de los 17 pacientes que presentaron alteración de la función tiroidea, 11 pacien-

Tabla I. Perfil tiroideo previo y postratamiento con alemtuzumab en pacientes con esclerosis múltiple que desarrollaron enfermedad tiroidea										
Pac.	Perfil tiroideo previo al tratamiento			Alteración tiroidea postratamiento						Alteración tiroidea diagnosticada
	TSH	T4L	Anti-TPO	TSH	T4L	T3L	Anti-TPO	Anti-TG	Anti-TRAc	
	0,27-5,35 mU/L	0,93-1,70 ng/dL	< 34 U/mL	0,27-5,35 mU/L	0,93-1,70 ng/dL	2-4,40 pg/mL	< 34 U/mL	< 1 15 U/mL	< 1,50 UI/L	
1	0,93	1,09	0,74	6,00	1,14	-	-	-	-	Hipotiroidismo subclínico transitorio
2	2,19	1,19	63,36	0,10	2,30	3,80	394,4	448,4	> 30	Enfermedad de Graves
3	3,29	1,08	80,68	89,22 0,01	0,83 2,12	2 -	80,6 -	163 -	> 30 -	Enfermedad de Graves fluctuante
4	2,19	0,86	-	0,01	2,24	4,11	8,6	256,4	>30	Enfermedad de Graves
5	1,17	0,97	-	0,01 8,81	7,21 0,82	11,20 -	50,4 -	35,1 -	1,31 > 30	Tiroiditis de Hashimoto
6	1,03	0,93	< 0,10	0,04 91,21	2,12 0,54	- -	- 139,9	- 491,3	> 30 -	Enfermedad de Graves fluctuante
7	2,76	1,17	59,93	0,01	6,22	20,11	233,4	278,1	15,8	Enfermedad de Graves
8	0,60	1,41	-	0,01 76,71	2,56 0,24	- 0,80	53,1 -	582,3 -	1,5 -	Tiroiditis de Hashimoto

Continúa en la página siguiente

Tabla I. (Cont.)
Perfil tiroideo previo y postratamiento con alemtuzumab en pacientes con esclerosis múltiple que desarrollaron enfermedad tiroidea

Pac.	Perfil tiroideo previo al tratamiento			Alteración tiroidea postratamiento						Alteración tiroidea diagnosticada
	TSH	T4L	Anti-TPO	TSH	T4L	T3L	Anti-TPO	Anti-TG	Anti-TRAc	
	0,27-5,35 mU/L	0,93-1,70 ng/dL	< 34 U/mL	0,27-5,35 mU/L	0,93-1,70 ng/dL	2-4,40 pg/mL	< 34 U/mL	< 1 15 U/mL	< 1,50 UI/L	
9	0,91	1,22	-	25,12	0,53	-	> 600	-	>30	Hipotiroidismo con anti-Trac positivo
10	3,43	1,03	-	5,17	1,17	-	9,8	-	-	Hipotiroidismo subclínico transitorio
11	1,57	1,10	-	0,21	4,80	12	365,2	-	> 30	Enfermedad de Graves
12	1,92	1,32	-	51,32	0,63	-	15,6	1142	-	Hipotiroidismo
13	1,65	1,47	27,55	0,01 5,75	2,84 0,87	-	109,5	2164	< 0,25	Tiroiditis de Hashimoto
14	1,39	1,14	-	0,01	7,22	14,90	26,0	< 10	28,8	Enfermedad de Graves
15	1,02	1,30	-	0,09	1,94	-	25,1	451,8	< 0,25	Hipertiroidismo autoinmune sin Trac
16	2,46	1,03	-	0,01	4,31	18,41	25,2	374,1	7,2	Enfermedad de Graves
17	0,32	1,63	-	100	1,14	-	11,1	< 10	> 30	Control difícil terapéutico en paciente con antecedentes de enfermedad tiroidea

Los valores de referencia aparecen indicados debajo de cada parámetro. Para pacientes que presentaron fluctuaciones de hipo a hipertiroidismo o viceversa, se presentan ambos datos analíticos. TSH: tirotropina; T4L: tiroxina libre; T3L: triyodotironina libre; anti-TPO: anticuerpos antiperoxidasa; anti-TG: anticuerpos antitiroglobulina; anti-TRAc: anticuerpos anti receptor TSH.

tes eran eutiroideos, 1 paciente presentaba hipotiroidismo y 5 pacientes hipertiroidismo.

En cuanto a la evolución de la patología basal de los pacientes, 9 pacientes de 43 (7 mujeres y 2 hombres) presentaron al menos un brote de enfermedad durante el periodo de seguimiento (4 pacientes presentaron 2 brotes post alemtuzumab y 5 pacientes solo uno). Cinco pacientes presentaron progresión y se reconsideró un cambio del tratamiento.

DISCUSIÓN

El alemtuzumab es un fármaco muy útil en el tratamiento de esclerosis múltiple, pero además de la disfunción tiroidea, bastante frecuente, presenta también otros efectos secundarios graves, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), síndrome de Goodpasture, hepatitis autoinmune o colestasis alitiásica (7).

Las alteraciones tiroideas que han aparecido en nuestros pacientes tratados son variables en cuanto al tipo de

disfunción tiroidea inducida, la edad de inicio o el momento del desarrollo. Esta variabilidad se refleja también en la evolución y el pronóstico de la enfermedad, con patologías transitorias y subclínicas hasta enfermedades permanentes o refractarias al tratamiento convencional. Puede aparecer desde hipotiroidismo a hipertiroidismo o tiroiditis de Hashimoto. Una entidad destacable, descrita por primera vez en este tipo de pacientes es la enfermedad de Graves fluctuante (8), disfunción que se caracteriza por fluctuaciones inesperadas de hipotiroidismo a hipertiroidismo o al revés, que no se pueden explicar por omisiones o cambios en el tratamiento.

El mecanismo a través del cual se producen estas alteraciones no está esclarecido, interviniendo factores autoinmunes y una cierta predisposición genética. Una hipótesis comúnmente aceptada se basa en la rotura de la tolerancia inmunológica durante el periodo de repoblación linfocitaria. La cinética de la recuperación linfocitaria es diferente en función de cada subpoblación celular lo que conlleva a un trastorno en la inmunidad adaptativa. Las células T, las células B y los monocitos son indetectables en sangre periférica inmediatamente

te después de cada tratamiento con alemtuzumab. Los niveles basales se recuperan, pero a diferentes velocidades (7).

Observamos una probabilidad de desarrollar afectación tiroidea más alta en mujeres que en hombres (47 % vs. 11 %), factor atribuible probablemente también a la prevalencia más alta de la esclerosis múltiple en esta categoría de pacientes (9).

En cuanto al tipo de disfunción tiroidea inducida, nuestros datos concuerdan con datos publicados con predominancia de la enfermedad de Graves (35 %), alcanzado casi la mitad de los casos si sumamos los casos de enfermedad de Graves fluctuante (3,4).

La incidencia de la alteración tiroidea está aumentada en el primer año tras la administración de alemtuzumab; 75 % de nuestros pacientes desarrollaron enfermedad tiroidea en los primeros 13 meses. El desequilibrio entre las distintas poblaciones linfocitarias durante la fase de recuperación modula probablemente el proceso inmune dirigido contra autoantígenos, especialmente del tejido tiroideo (1). La linfopenia prolongada predominantemente, de las células cooperadoras y supresoras T, y el desequilibrio entre las distintas subpoblaciones B, con predominancia de las

células inmaduras con alto potencial inmunogénico, durante el primer trimestre de tratamiento podría ser uno de los mecanismos que interfieren en el proceso autoinmune descrito en este tipo de pacientes (5).

Parece ser que la base inmunológica es imprescindible para el desarrollo de la enfermedad tiroidea, dado que todos los pacientes presentaron en el momento del inicio de la enfermedad por lo menos un tipo anticuerpo antitiroideo positivo a título alto. En nuestro estudio el diagnóstico de enfermedad de Graves se realizó en 8 de 11 pacientes con anticuerpos anti-TRAc positivos, por lo que la presencia de estos anticuerpos no marca siempre el desarrollo de la enfermedad de Graves. La determinación usual de los anticuerpos anti-TRAc no discrimina entre anticuerpos estimulantes o inhibidores de la función del receptor de TSH. La diferenciación entre ambos tipos de anticuerpos podría aportar datos con respecto al pronóstico y evolución de la enfermedad tiroidea, optimizando el seguimiento y el manejo de los pacientes (10). El mínimo de linfocitos alcanzado y la duración de la linfopenia no se han asociado a un mayor riesgo de enfermedad tiroidea, dato concordante con lo que se había descrito en la literatura (11) (Tabla II).

Tabla II.
Distribución de la alteración tiroidea y características de los pacientes

	Sin alteración tiroidea		Con alteración tiroidea		p
	N.º (%)	Mediana (RIQ)	N.º (%)	Mediana (RIQ)	
Total	26 (100)		17 (100)		
Edad al inicio del tratamiento con alemtuzumab	26 (100)	31 (26-38)	17 (100)	35 (23-42)	0,49
Sexo					
	Hombres	8 (31)	1 (6)		0,05
	Mujeres	18 (69)	16 (94)		
Tabaco					
	No	12 (57)	10 (77)		0,24
	Sí	9 (43)	3 (23)		
Tratamiento anterior					
	No	4 (15)	3 (18)		0,8
	Sí	22 (85)	14 (82)		
Mínimo de linfocitos alcanzado					
	≤ 100	15 (60)	9 (53)		0,65
	> 100	10 (40)	8 (47)		

Somos conocedores de que nuestro estudio presenta algunas limitaciones, no presentamos un tamaño muestral grande, el tiempo de seguimiento de los pacientes no ha podido ser unificado, no todos los pacientes presentaban estudio de anticuerpos antitiroideos previo, para conocer su estado anterior y no se pudo realizar la correlación entre la presencia de una base inmunológica (anti-TPO, anti-TG, anti-TRAc positivos) y el desarrollo de la enfermedad tiroidea dado el número limitado de pacientes con estudio inmunológico completo previo al inicio del tratamiento.

En resumen, nuestros resultados sugieren que el 40 % de los pacientes con esclerosis múltiple tratados con alemtuzumab podrían presentar afectación tiroidea, siendo el sexo femenino uno de los factores de riesgo más descritos. Dicha afectación muestra un patrón tiempo-dependiente, en el cual la mayoría de los pacientes desarrollan la enfermedad tiroidea en los primeros dos años tras el inicio del tratamiento con alemtuzumab.

Finalmente, todos los pacientes presentaron por lo menos un tipo de anticuerpo positivo (anti-TPO, anti-TG o anti-TRAc), lo que sugiere la importancia de un sustrato inmunológico para el desarrollo de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cree BAC, Mares J, Hartung HP. Current therapeutic landscape in multiple sclerosis: an evolving treatment paradigm. *Curr Opin Neurol* 2019;32(3):365-77.
2. Coles AJ. Alemtuzumab therapy for multiple sclerosis, *Neurotherapeutics* 2013;10:29-33.
3. Pariani N, Willis M, Muller I, et al. Alemtuzumab-induced thyroid dysfunction exhibits distinctive clinical and immunological features. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2018;108(8):3010-8.
4. Daniels GH, Vladic A, Brinar V, et al. Alemtuzumab-related thyroid dysfunction in a phase 2 trial of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(1):80-9.
5. Ruck T, Schulte-Mecklenbeck A, Pfeuffer S, et al. Pretreatment anti-thyroid autoantibodies indicate increased risk for thyroid autoimmunity secondary to alemtuzumab: A prospective cohort study. *EBioMedicine* 2019;46:381-6.
6. Thompson SA, Jones JL, Cox AL, Compston DA, Coles AJ. B-cell reconstitution and BAFF after alemtuzumab (Campath-1H) treatment of multiple sclerosis. *J Clin Immunol* 2010;30(1):99-105.
7. Coles AJ, Fox E, Vladic A, et al. Alemtuzumab more effective than interferon β -1a at 5-year follow-up of CAMMS223 clinical trial. *Neurology* 2012;78(14):1069-78.
8. Muller I, Moran C, Lecumberri B, et al. 2019 European Thyroid Association Guidelines on the Management of Thyroid Dysfunction following Immune Reconstitution Therapy. *Eur Thyroid J* 2019;8(4):173-85.
9. Estienne V, Duthoit C, Reichert M, et al. Androgen-dependent expression of Fc γ RIIB2 by thyrocytes from patients with autoimmune Graves' disease: a possible molecular clue for sex dependence of autoimmune disease. *FASEB J* 2002;16(9):1087-92.
10. Muller I, Willis M, Healy S, et al. Longitudinal Characterization of autoantibodies to the thyrotropin receptor (TRAb) during alemtuzumab therapy: evidence that TRAb may precede thyroid dysfunction by many years. *Thyroid* 2018;28(12):1682-93.
11. Katsavos S, Coles A. Alemtuzumab as treatment for multiple sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018;8(10):a032029.



Original

Especificaciones mínimas de consenso de calidad analítica en España. Comparación con valores previos, preceptivos y de variabilidad biológica

Minimum analytical quality consensus specifications in Spain. Comparison with previous, mandatory and biological variability values

Enrique Prada de Medio^{1,2}, Ángel Molina Borrás^{1,3}, José Alcaraz Quiles^{1,3}, Joan Batista Castellví¹, Francisco Ramón Bauzá¹, Ángel Salas García¹ y Jorge Morancho Zaragoza¹

¹Comité de Expertos Interdisciplinar Especificaciones de la Calidad (CEIEC). ²Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Virgen de la Luz. Cuenca. ³Laboratorio de Evaluación Externa de la Calidad en Hematología. Laboratorio Core. Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Centro de Diagnóstico Biomédico. Hospital Clínic. Barcelona

Recibido: 21/11/2020
Aceptado: 07/12/2020

Correspondencia: Enrique Prada de Medio. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Virgen de la Luz. C/ Hermandad Donantes de Sangre, 1. 16002 Cuenca
e-mail: eprada@sescam.jccm.es

Palabras clave:

Especificaciones proceso analítico.
Control de calidad. Variabilidad biológica.

RESUMEN

En este trabajo el Comité de Expertos Interdisciplinar de Especificaciones de la Calidad presenta los valores de especificación para 143 magnitudes, lo que sitúa a España como el país con mayor número de mensurandos con valor de especificación. Estos valores se han obtenido a partir de los resultados enviados por los laboratorios que están inscritos en los Programas de Intercomparación de las 4 Sociedades Científicas más representativas del laboratorio clínico.

Además, se realizan diferentes ejercicios comparativos, de los que podemos extraer algunas conclusiones: las especificaciones del periodo 2011-2015 son más estrictas que las obtenidas en el periodo 2007-2010, en relación a la comparación con la especificación más estricta de entre las preceptivas; en un 68 % de los mensurandos, nuestra especificación ha resultado ser similar o más estricta, lo que indica que nuestros valores son similares a los preceptivos en cuanto a dificultad de cumplimiento.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00056

Prada de Medio E, Molina Borrás Á, Alcaraz Quiles J, Batista Castellví J, Bauzá FR, Salas García Á, Morancho Zaragoza J. Especificaciones mínimas de consenso de calidad analítica en España. Comparación con valores previos, preceptivos y de variabilidad biológica. Rev Med Lab 2020;1(3):93-107

Por último, del resultado de la comparación con los datos según variabilidad biológica de la base de datos de la European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, encontramos que en un 41 %, nuestra especificación es más estricta que la variabilidad biológica, en un 49 % ocurría el caso contrario y en un 10 % el valor era similar. Esta heterogeneidad observada entre las especificaciones de consenso y las obtenidas por variación biológica va en sintonía con la filosofía de la Conferencia de Milán de 2014 donde entre los tres niveles de cumplimiento de especificaciones de calidad no existe una relación estrictamente jerárquica.

Keywords:

Analytical performance specifications.
Quality control. Biological variation.

ABSTRACT

In this work, the Interdisciplinary Expert Committee on Quality Specifications presents the specification values for 143 magnitudes, which places Spain as the country with the greatest number of measurements with a specification value. These values have been obtained from the results sent by the laboratories that are registered in the Intercomparison Programs of the 4 most representative Scientific Societies of the clinical laboratory.

In addition, different comparative exercises are carried out, from which we can draw some conclusions: The specifications for the period 2011-2015 are stricter than those obtained in the period 2007-2010, in relation to the comparison with the strictest specification among the mandatory ones, in 68 % of the measurands, our specification has turned out to be similar or stricter, which indicates that our values are similar to the mandatory ones in terms of difficulty of compliance. Finally, from the result of the comparison with the data according to biological variability from the database of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, we found that in 41 %, our specification is stricter than the biological variability, in 49 % the opposite was true and in 10 % the value was similar. This heterogeneity observed between the consensus specifications and those obtained by biological variation is in line with the philosophy of the Milan Conference in 2014 where there is no strictly hierarchical relationship between the three levels of compliance with quality specifications.

INTRODUCCIÓN

Entre los años 2006 y 2007, la Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML), la Asociación Española del Laboratorio Clínico (AEFA), la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC^{ML}) y la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH), crearon un Comité de Expertos Interdisciplinar de Especificaciones de la Calidad (CEIEC) con el objetivo de establecer unas especificaciones mínimas de consenso (EMC) que basadas en el estado del arte, pudieran servir a los laboratorios clínicos como punto de partida de cumplimiento de sus objetivos de calidad analíticos.

Este recorrido comenzó en el año 2008, con la publicación de valores de especificación para 23 magnitudes biológicas del área de Bioquímica general. Los cálculos se hicieron con los resultados de los Programas de Intercomparación de los años 2005 y 2006 (1).

Posteriormente, en el año 2009, se realizó un trabajo de ampliación de los valores de especificación con 37 nuevas magnitudes de las áreas de Hematología gene-

ral, Fármacos, Hormonas y Marcadores Tumorales con los periodos 2005 y 2006 (2), conformando en total un panel de valores de EMC para 60 magnitudes.

En el año 2011, se realizó una actualización de los valores de especificación de estas 60 magnitudes iniciales con los ciclos 2007-2010 (cada periodo englobaba los resultados mensuales de los programas de intercomparación de las cuatro Sociedades con un total de 48 periodos), con datos de 4.104 laboratorios y una media de valores por magnitud de 34.523. El total de resultados con los que se elaboró esta actualización fue de 2.468.365 resultados (3).

El número de magnitudes con EMC se amplió a 80 en el año 2013, gracias a la incorporación de 20 nuevos mensurandos como la hemoglobina A1c, magnitudes de Bioquímica de orina y otras del área de Hematología (4).

Siendo una de las estrategias más importantes del CEIEC la difusión de la correcta utilización de las EMC, este mismo año 2013, se elaboró un documento donde se desarrollaba la aplicación práctica de las especificaciones mínimas de la calidad en la rutina del laboratorio clínico (5).

En esta publicación figura que, dentro de las características de las EMC, es muy importante constatar que:

- Son especificaciones para el error total.
- Están fundamentadas en el estado del arte.
- No reemplazan las especificaciones de la calidad basadas en situaciones clínicas específicas (nivel 1 de la Conferencia de Consenso de Milán) (6).
- No reemplazan las especificaciones de la calidad basadas en variabilidad biológica (nivel 2 de la Conferencia de Consenso de Milán) (6).
- Son una declaración de mínimos que todo laboratorio debería cumplir.

En este manuscrito se presenta el trabajo, realizado en el año 2017, de revisión y ampliación de nuevas magnitudes de diferentes áreas de conocimiento teniendo en cuenta el periodo 2011-2015, que además quedó refrendado en un documento consenso firmado por los presidentes de las cuatro Sociedades científicas participantes en el CEIEC, disponible en las páginas web de éstas para consulta por parte de socios e interesados (7-10).

Como se verá más adelante, el total de magnitudes con valor de especificación es de 143, siendo nuestro país el que cuenta con un mayor número de magnitudes con valor de especificación si lo comparamos con países con especificaciones preceptivas como Estados Unidos (11), Alemania (12) o Rusia (13).

Los objetivos de este trabajo son:

- Cálculo del valor de EMC para nuevas magnitudes y actualización de las ya existentes.
- Comparación de los valores de EMC del periodo 2011-2015 frente al periodo 2007-2010.
- Comparación de los valores de EMC con el valor más estricto de la especificación preceptiva existente.
- Comparación de los valores de EMC con los valores de especificación según variabilidad biológica (VB) (14).

MATERIAL Y MÉTODOS

Como material para el cálculo de los nuevos valores de EMC, se utilizaron los resultados aportados de cada magnitud por cada laboratorio, en cada Programa de Intercomparación (PI) y en cada uno de los ciclos de esos PI durante el periodo 2011-2015. Los programas de Intercomparación consisten en el envío de soluciones control, que deben ser tratadas como muestras de pacientes, a los laboratorios y cuyos resultados reportados por cada inscrito son comparados con aquellos que utilizan una metodología igual o similar. En ellos participan laboratorios de muy diferente tamaño y de titularidad tanto pública como privada siendo por tanto un fiel reflejo de la situación real del sector de los laboratorios clínicos en España y de sus prestaciones analíticas.

Además, se utilizó el periodo 2007-2010 para comparar los nuevos valores de especificación obtenidos con los del periodo previo.

El método de cálculo de las EMC se basa en los informes de resultados de los PI, en los que se emplea como estadístico fundamental de desviación, el error total de medida en porcentaje (ET) que se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$ET = \frac{100 \times (\text{Resultado laboratorio} - \text{Valor diana})}{\text{Valor diana}}$$

Valor diana: media de los resultados emitidos por los laboratorios usuarios del mismo sistema analítico (grupo homogéneo) o media global si hay pocos participantes de cada grupo (< 10 laboratorios).

El método de cálculo de cada una de las EMC se basa en dos procedimientos que son excluyentes entre sí:

- Procedimiento A: se aplica siempre primero y está basado en el factor resultado.
- Procedimiento B: se aplica cuando la especificación obtenida por el método anterior no se considera adecuada, está basado en la variable laboratorio.

El desarrollo matemático de estos dos procedimientos de cálculo de las EMC ha sido publicado por el CEIEC en varios documentos (1,2).

Es importante considerar que para el cálculo de las EMC del periodo 2011-2015 se han implantado dos pequeñas modificaciones respecto al anterior método de cálculo:

1. Como especificaciones preceptivas antes se utilizaban exclusivamente Rili-BÄK (Alemania) y CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) (Estados Unidos) y en este trabajo se ha utilizado también las especificaciones establecidas en la Federación Rusa.
2. Antes se utilizaba la especificación más laxa (valor más elevado) de las preceptivas y ahora se ha utilizado la media robusta de las preceptivas existentes.

Una vez calculadas las EMC se procedió a realizar una serie de comparaciones, informando por un lado sobre las magnitudes de programas de Bioquímica general suero, orina, hormonas, marcadores tumorales y fármacos, y por otro lado sobre las magnitudes de programas de Hematología:

1. Comparación de los valores de EMC del periodo 2011-2015 frente al periodo 2007-2010.
2. Comparación de los valores de EMC con el valor más estricto (valor más bajo) de la especificación preceptiva existente de CLIA (11), guías Rili-BÄK (12) o Federación Rusa (13).
3. Comparación de los valores de EMC con los valores de especificación deseable según variabilidad biológica de la European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) (14).

Es importante constatar que en los ejercicios de comparación se considera:

- Especificación más laxa: la que tiene el valor mayor.
- Especificación más estricta: la que tiene el valor menor.

- Ambas especificaciones tienen un valor similar si la diferencia entre ambas es inferior a una unidad.

RESULTADOS

El objetivo fundamental del artículo es la presentación (Tabla I) de los valores de EMC de 143 magnitudes de diferentes áreas del laboratorio clínico.

A continuación, se muestran los resultados de las comparaciones realizadas divididas en seis apartados o bloques:

1. Comparación de las EMC de los periodos 2011-2015 frente al 2007-2010 en magnitudes de programas de Bioquímica general suero y orina, hormonas, marcadores tumorales, proteínas y fármacos

En la tabla II se puede ver el nuevo valor de las EMC de las 55 magnitudes incluidas en estos programas con valor de especificación previo y su comparativa con el antiguo valor.

De las 55 magnitudes que se incluyen en este bloque el resultado es que:

- 46 magnitudes la EMC del nuevo periodo es más estricta que el periodo anterior.
- 4 magnitudes la EMC del nuevo periodo es menos estricta que el periodo anterior.
- 5 magnitudes la EMC del nuevo periodo es similar a la obtenida en el periodo anterior.

Como se observa en la tabla II, es muy significativo el descenso del valor de la EMC de algunas magnitudes como la α -amilasa que desciende de 35 % que tenía en suero y en orina, al 18 % y al 15 %, respectivamente. Otras magnitudes cuyo valor de EMC ha sufrido una mayor variación a la baja han sido: calcio en orina (-14), proteínas en orina (-13), fosfatasa alcalina (-10) e inmunoglobulina IgM (-10).

2. Comparación de las EMC de los periodos 2011-2015 frente al 2007-2010 en magnitudes de programas de Hematología

En la tabla III se puede ver el nuevo valor de las EMC de las 21 magnitudes de los programas de Hematología que tenían valor de especificación previo y su comparativa con el antiguo valor.

De las 21 magnitudes de Hematología que se incluyen en este bloque, el resultado es:

- 11 magnitudes la EMC del nuevo periodo es *más estricta* que el periodo anterior.
- 2 magnitudes la EMC del nuevo periodo es *menos estricta* que el periodo anterior.
- 8 magnitudes la EMC del nuevo periodo es *similar* a la obtenida en el periodo anterior.

3. Comparación de las nuevas EMC con la más estricta de las preceptivas en magnitudes de programas de Bioquímica suero y orina, hormonas, marcadores tumorales, proteínas y fármacos

Los resultados de la comparación se pueden ver en la tabla IV.

De los 117 mensurandos de Bioquímica con EMC, se ha podido realizar la comparación en 83 de ellas, el resultado de la comparación ha sido que:

- 51 magnitudes la EMC es *más estricta* que la preceptiva más exigente.
- 23 magnitudes la EMC es *menos estricta* que la preceptiva más exigente.
- 9 magnitudes la EMC tiene un *valor similar* que la preceptiva más exigente.

4. Comparación de las nuevas EMC con la más estricta de las preceptivas en magnitudes de programas de Hematología

Los resultados de la comparación se pueden ver en la tabla V.

De los 26 mensurandos del área de Hematología con EMC, se ha podido realizar la comparación solo en 9 de ellas, el resultado de la comparación ha sido que:

- 1 magnitud la EMC es *más estricta* que la preceptiva más exigente.
- 6 magnitudes la EMC es *menos estricta* que la preceptiva más exigente.
- 2 magnitudes la EMC tiene un *valor similar* que la preceptiva más exigente.

5. Comparación de las nuevas EMC con la especificación deseable obtenida de la variación biológica de la base de datos de la EFLM en magnitudes de programas de Bioquímica general suero y orina, hormonas, marcadores tumorales, proteínas y fármacos

Los resultados de la comparación se pueden ver en la tabla VI.

De los 117 mensurandos de Bioquímica con EMC, se ha podido realizar la comparación en 58 de ellas, el resultado de la comparación ha sido que:

- 24 magnitudes la EMC es *más estricta* que la especificación obtenida según variabilidad biológica (nivel deseable).
- 28 magnitudes la EMC es *menos estricta* que la especificación obtenida según variabilidad biológica (nivel deseable).
- 6 magnitudes la EMC tiene un *valor similar* que la especificación obtenida según variabilidad biológica (nivel deseable).

6. Comparación de las nuevas EMC con la especificación (deseable) obtenida de la variación biológica de la base de datos de la EFLM en magnitudes de programas de Hematología

Los resultados de la comparación se pueden ver también en la tabla VI.

De los 26 mensurandos del área de Hematología con EMC, se ha podido realizar la comparación en 14 de ellas, el resultado de la comparación ha sido que:

- 2 magnitudes la EMC es *más estricta* que la especificación obtenida según variabilidad biológica (nivel deseable).
- 9 magnitudes la EMC es *menos estricta* que la especificación obtenida según variabilidad biológica (nivel deseable).
- 3 magnitudes la EMC tiene un *valor similar* que la especificación obtenida según variabilidad biológica (nivel deseable).

Tabla I. Nuevos valores EMC periodo 2011-2015	
Mensurando	EMC (%)
Alanina aminotransferasa (suero, plasma)	17
Albúmina (orina)	38
Albúmina (suero, plasma)	11
α-amilasa (orina)	15
α-amilasa (suero, plasma)	18
Androstendiona (suero, plasma)	31
Antígeno CA 125 (suero, plasma)	11
Antígeno CA 15.3 (suero, plasma)	13
Antígeno CA 19.9 (suero, plasma)	13
Antígeno CA 72.4 (suero, plasma)	11
Antígeno carcinoembrionario (suero, plasma)	15
Antígeno Cyfra 21.1 (suero, plasma)	11
Antígeno específico de la próstata (suero, plasma)	15
Antígeno específico de la próstata libre (suero, plasma)	13
α1-antitripsina (suero, plasma)	13
Antitrombina (actividad) (plasma)	34
Apolipoproteína A1 (suero, plasma)	12
Apolipoproteína B (suero, plasma)	10
Aspartato aminotransferasa (suero, plasma)	16

Continúa en la columna siguiente

Tabla I. (Cont.). Nuevos valores EMC periodo 2011-2015	
Mensurando	EMC (%)
Basófilos (sangre total)	100
Bilirrubina (suero, plasma)	22
Calcio (suero, plasma)	9,1
Calcio (orina)	16
Calcio, ionizado (sangre total -gasometría-)	5,4
Carbamazepina (suero, plasma)	12
Ceruloplasmina (ferroxidasa) (suero, plasma)	12
CHCM (sangre total)	8,2
Cloruro (sangre total -gasometría-)	1,9
Cloruro (orina)	8,3
Cloruro (suero, plasma)	6
CO ₂ (sangre total -gasometría-)	7,1
Cobalamina (suero, plasma)	14
Colesterol (suero, plasma)	9,1
Colesterol de HDL (suero, plasma)	26
Colesterol de LDL (suero, plasma)	41
Complemento C3 (suero, plasma)	10
Complemento C4 (suero, plasma)	11
Cortisol (suero, plasma)	19
Creatina-cinasa MB, masa (suero, plasma)	15
Creatina-cinasa (suero, plasma)	19
Creatinina (orina)	13
Creatinina (suero, plasma)	22
Digoxina (suero, plasma)	21
Enolasa específica neuronal (suero, plasma)	13
Eosinófilos (sangre total)	29
Eritrocitos (sangre total)	4,1
Estradiol (suero, plasma)	21
Factor VIII coagulación (plasma)	37
Fenitoína (suero, plasma)	13
Fenobarbital (suero, plasma)	14
Ferritina (suero, plasma)	18
α1-fetoproteína (suero, plasma)	18
Fibrinógeno (plasma)	21

Continúa en la página siguiente

Tabla I. (Cont.). Nuevos valores EMC periodo 2011-2015	
Mensurando	EMC (%)
Folato (suero, plasma)	20
Folitropina (suero, plasma)	15
Fosfatasa alcalina (suero, plasma)	21
Fosfato (suero, plasma)	13
Fosfato (orina)	11
α 1-glicoproteína ácida (suero, plasma)	11
γ -globulinas (suero, plasma)	16
β -globulinas (suero, plasma)	19
α 1-globulinas (suero, plasma)	28
α 2-globulinas (suero, plasma)	16
Glucosa (sangre total -gasometría-)	6,5
Glucosa (suero, plasma)	8,4
Glucosa (orina)	8,4
γ -glutamilttransferasa (suero, plasma)	18
Gonadotropina coriónica (suero, plasma)	14
Haptoglobina (suero, plasma)	11
HCM (sangre total)	4,9
Hematocrito (sangre total)	8,5
Hemoglobina (sangre total)	4,6
Hemoglobina A1c (sangre total)	7,7
Hemoglobina A2 (sangre total)	22
Hemoglobina F (sangre total)	24
Hierro (suero, plasma)	24
Homocisteína (suero, plasma)	17
Hormona adrenocorticotropa (suero, plasma)	51
Inmunoglobulina A (suero, plasma)	15
Inmunoglobulina E (suero, plasma)	13
Inmunoglobulina G (suero, plasma)	12
Inmunoglobulina M (suero, plasma)	18
INR (plasma)	21
Insulina (suero, plasma)	38
Lactato (sangre total -gasometría-)	9,2
Lactato deshidrogenasa (suero, plasma)	21
Leucocitos (sangre total)	10

Continúa en la columna siguiente

Tabla I. (Cont.). Nuevos valores EMC periodo 2011-2015	
Mensurando	EMC (%)
Linfocitos (sangre total)	19
Litio (suero, plasma)	15
Lutropina (suero, plasma)	14
α 2-macroglobulina (suero, plasma)	19
Magnesio (suero, plasma)	9,4
β 2-microglobulina (suero, plasma)	14
Mioglobina (suero, plasma)	11
Monocitos (sangre total)	73
Neutrófilos (sangre total)	8,4
N-terminal - proBNP (suero, plasma)	19
Osmolalidad (orina)	5,2
Osmolalidad (suero, plasma)	5,2
Paratirina (suero, plasma)	23
Péptido C (suero, plasma)	12
pH (sangre total -gasometría-)	0,2
Plaquetas (sangre total)	16
pO ₂ (sangre total -gasometría-)	7,4
Potasio (orina)	8,6
Potasio (sangre total -gasometría-)	3,1
Potasio (suero, plasma)	5,4
Prealbúmina (suero, plasma)	16
Progesterona (suero, plasma)	22
Prolactina (suero, plasma)	20
Proteína (orina)	21
Proteína (suero, plasma)	9
Proteína C reactiva (suero, plasma)	12
Proteína S100 (suero, plasma)	14
Reticulocitos (%) (sangre total)	32
Reticulocitos (x10 ⁹ /L) (sangre total)	33
Sodio (orina)	7,2
Sodio (suero, plasma)	3,2
Somatotropina (suero, plasma)	13
Sulfato de deshidroepiandrosterona (suero, plasma)	19

Continúa en la página siguiente

Tabla I. (Cont.).	
Nuevos valores EMC periodo 2011-2015	
Mensurando	EMC (%)
Teofilina (suero, plasma)	12
Testosterona (suero, plasma)	22
Tiroglobulina (suero, plasma)	17
Tirotropina (suero, plasma)	16
Tiroxina (suero, plasma)	20
Tiroxina libre (suero, plasma)	16
TP (%) (plasma)	31
TP (ratio) (plasma)	13
Transferrina (suero, plasma)	8,3
Triglicéridos (suero, plasma)	14
Triiodotironina (suero, plasma)	20
Triiodotironina libre (suero, plasma)	12
Troponina I (suero, plasma)	21
Troponina T (suero, plasma)	22
TTPA (ratio) (plasma)	12
TTPA (segundos) (plasma)	24
Urato (suero, plasma)	13
Urato (orina)	11
Urea (suero, plasma)	14
Urea (orina)	13
Valproato (suero, plasma)	11
VCM (sangre total)	7,3
VSG (sangre total)	54

EMC: especificación mínima de consenso.

Tabla II.			
Comparacion EMC periodos 2011-2015 vs. EMC 2007-2010.			
Magnitudes programas de Bioquímica			
Mensurando	EMC (2011-2015)	EMC (2007-2010)	Diferencia valor absoluto
Alanina aminotransferasa	17	23	-6
Albumina orina	38	38	0
Albumina	11	14	-3
Aspartato aminotransferasa	16	21	-5
Bilirrubina	22	24	-2
Calcio orina	16	30	-14
Calcio	9,1	11	-1,9
Cloruro orina	8,3	11	-2,7
Cloruro	6	9	-3
Colesterol	9,1	11	-1,9
Colesterol de HDL	26	33	-7
Cortisol	19	28	-9
Creatina-cinasa	19	24	-5
Creatinina orina	13	15	-2
Creatinina	22	20	2
Digoxina	21	20	1
Estradiol	21	26	-5
Fenitoína	13	13	0
Fenobarbital	14	15	-1
Folitropina	15	14	1
Fosfatasa alcalina	21	31	-10
Fosfato orina	11	16	-5
Fosfato	13	17	-4
Glucosa orina	8,4	12	-3,6
Glucosa	8,4	11	-2,6
Hemoglobina A1c	7,7	12	-4,3
Hierro	24	24	0
Inmunoglobulina A	15	21	-6
Inmunoglobulina G	12	16	-4
Inmunoglobulina M	18	28	-10
Lactato deshidrogenasa	21	26	-5
Litio	15	18	-3

Continúa en la página siguiente

Tabla II (Cont.). Comparación EMC periodos 2011-2015 vs. EMC 2007-2010. Magnitudes programas de Bioquímica			
Mensurando	EMC (2011- 2015)	EMC (2007- 2010)	Diferencia valor absoluto
Lutropina	14	17	-3
Potasio orina	8,6	12	-3,4
Potasio	5,4	8	-2,6
Progesterona	22	26	-4
Prolactina	20	22	-2
Proteína orina	21	34	-13
Proteína	9	12	-3
Sodio orina	7,2	10	-2,8
Sodio	3,2	5	-1,8
Teofilina	12	12	0
Testosterona	22	23	-1
Tirotropina	16	15	1
Tiroxina	20	24	-4
Tiroxina libre	16	16	0
Triglicéridos	14	18	-4
Triiodotironina	20	24	-4
Urato orina	11	15	-4
Urato	13	17	-4
Urea orina	13	19	-6
Urea	14	19	-5
α-amilasa orina	15	35	-20
α-amilasa	18	35	-17
γ-glutamilttransferasa	18	22	-4

EMC (2011-2015): especificación mínima consenso periodo 2011-2015; EMC (2007-2010): especificación mínima consenso periodo 2007-2010.

Tabla III. Comparación EMC periodos 2011-2015 vs. EMC 2007-2010. Magnitudes progra- mas de Hematología			
Mensurando	EMC (2011- 2015)	EMC (2007- 2010)	Diferencia valor absoluto
Antitrombina (actividad)	34	43	-9
CHCM	8,2	8	0,2
Eritrocitos	4,1	4	0,1
Factor VIII coagulación	37	49	-12
Fibrinógeno	21	24	-3
HCM	4,9	5	-0,1
Hematocrito	8,5	8	0,5
Hemoglobina	4,6	5	-0,4
Hemoglobina A2	22	37	-15
Hemoglobina F	24	39	-15
INR	21	24	-3
Leucocitos	10	9	1
Plaquetas	16	16	0
Reticulocitos (%)	32	35	-3
Reticulocitos (x10 ⁹ /L)	33	39	-6
TP (%)	31	29	2
TP (ratio)	13	17	-4
TTPA (ratio)	12	15	-3
TTPA (segundos)	24	27	-3
VCM	7,3	7	0,3
VSG	54	54	0

EMC (2011-2015): especificación mínima consenso periodo 2011-2015. EMC (2007-2010): especificación mínima consenso periodo 2007-2010.

Tabla IV. Comparación valor EMC magnitudes Bioquímica vs. valor preceptiva más exigente				
Mensurando	EMC	Valor especificación preceptiva más exigente	Especificación preceptiva más estricta	Diferencia valor absoluto
Alanina aminotransferasa	17	15	CLIA	2
Albúmina	11	8	CLIA	3

Continúa en la página siguiente

Tabla IV (Cont.).				
Comparación valor EMC magnitudes Bioquímica vs. valor preceptiva más exigente				
Mensurando	EMC	Valor especificación preceptiva más exigente	Especificación preceptiva más estricta	Diferencia valor absoluto
Albúmina orina	38	26	Rili-BÄK	12
Antígeno CA 125	11	20	CLIA	-9
Antígeno CA 15.3	13	24	Rili-BÄK	-11
Antígeno carcinoembrionario	15	15	CLIA	0
Antígeno específico de la próstata	15	20	CLIA	-5
Aspartato aminotransferasa	16	21	Rili-BÄK	-5
Bilirrubina	22	20	CLIA	2
Calcio orina	16	17	Rili-BÄK	-1
Calcio	9,1	7	Federación Rusa	2,1
Calcio, ionizado	5,4	15	Rili-BÄK	-9,6
Carbamazepina	12	20	Rili-BÄK/CLIA	-8
Cloruro	6	3	Federación rusa	3
CO ₂	7,1	8	CLIA	-0,9
Cobalamina	14	25	CLIA	-11
Colesterol	9,1	7	Federación rusa	2,1
Colesterol de HDL	26	20	CLIA	6
Colesterol de LDL	41	20	CLIA	21
Complemento C3	10	15	CLIA	-5
Complemento C4	11	20	CLIA	-9
Cortisol	19	20	CLIA	-1
Creatina cinasa MB, masa	15	25	CLIA	-10
Creatina-cinasa	19	20	Rili-BÄK/CLIA	-1
Creatinina orina	13	21	Rili-BÄK	-8
Creatinina	22	10	CLIA	12
Digoxina	21	15	CLIA	6
Estradiol	21	30	CLIA	-9
Fenitoína	13	15	CLIA	-2

Continúa en la página siguiente

Tabla IV (Cont.).				
Comparación valor EMC magnitudes Bioquímica vs. valor preceptiva más exigente				
Mensurando	EMC	Valor especificación preceptiva más exigente	Especificación preceptiva más estricta	Diferencia valor absoluto
Fenobarbital	14	15	CLIA	-1
Ferritina	18	20	CLIA	-2
Folato	20	30	CLIA	-10
Folitropina	15	18	CLIA	-3
Fosfatasa alcalina	21	10	Federación rusa	11
Fosfato orina	11	20	Rili-BÄK	-9
Fosfato	13	7	Federación rusa	6
Glucosa orina	8,4	22	Rili-BÄK	-13,6
Glucosa	8,4	8	CLIA	0,4
Gonadotropina coriónica	14	18	CLIA	-4
Hemoglobina A1c	7,7	8	Rili-BÄK	-0,3
Hierro	24	15	CLIA	9
Inmunoglobulina A	15	15	CLIA	0
Inmunoglobulina E	13	20	CLIA	-7
Inmunoglobulina G	12	18	Rili-BÄK	-6
Inmunoglobulina M	18	20	CLIA	-2
Lactato	9,2	18	Rili-BÄK	-8,8
Lactato deshidrogenasa	21	15	CLIA	6
Litio	15	12	Rili-BÄK	3
Lutropina	14	20	CLIA	-6
Magnesio	9,4	13	Federación rusa	-3,6
N-terminal - proBNP	19	30	CLIA	-11
Paratirina	23	30	CLIA	-7
pH	0,2	0,8	Rili-BÄK	-0,6
pO ₂	7,4	12	Rili-BÄK	-4,6
Potasio orina	8,6	15	Rili-BÄK	-6,4
Potasio	5,4	5,1	CLIA	0,3

Continúa en la página siguiente

Tabla IV (Cont.). Comparación valor EMC magnitudes Bioquímica vs. valor preceptiva más exigente				
Mensurando	EMC	Valor especificación preceptiva más exigente	Especificación preceptiva más estricta	Diferencia valor absoluto
Progesterona	22	25	CLIA	-3
Prolactina	20	20	CLIA	0
Proteína orina	21	24	Rili-BÄK	-3
Proteína	9	8	CLIA	1
Proteína C reactiva	12	20	Rili-BÄK	-8
Sodio orina	7,2	12	Rili-BÄK	-4,8
Sodio	3,2	2	Federación rusa	1,2
Teofilina	12	20	CLIA	-8
Testosterona	22	30	CLIA	-8
Tirotropina	16	20	CLIA	-4
Tiroxina	20	20	CLIA	0
Tiroxina libre	16	15	CLIA	1
Transferrina	8,3	12	Rili-BÄK	-3,7
Triglicéridos	14	15	CLIA/ Federación rusa	-1
Triiodotironina	20	30	CLIA	-10
Triiodotironina libre	12	18	CLIA	-6
Troponina I	21	30	CLIA	-9
Troponina T	22	30	CLIA	-8
Urato orina	11	23	Rili-BÄK	-12
Urato	13	10	CLIA	3
Urea orina	13	21	Rili-BÄK	-8
Urea	14	9	CLIA	5
Valproato	11	20	CLIA/Rili-BÄK	-9
α -amilasa	18	10	CLIA	8
α 1-antitripsina	13	20	CLIA	-7
α 1-fetoproteína	18	20	CLIA	-2
γ -glutamilttransferasa	18	15	CLIA	3

EMC: especificación mínima consenso.

Tabla V.
Comparación valor EMC magnitudes. Hematología vs. valor preceptiva más exigente

Mensurando	EMC	Valor especificación preceptiva más exigente	Especificación preceptiva más estricta	Diferencia valor absoluto
Eritrocitos	4,1	4	CLIA	0,1
Fibrinógeno	21	20	CLIA	1
Hematocrito	8,5	4	CLIA	4,5
Hemoglobina	4,6	4	CLIA	0,6
Leucocitos	10	5	CLIA	5
Plaquetas	16	13	Rili-BÄK	3
TP (%)	31	15	CLIA	16
TP (ratio)	13	23	Rili-BÄK	-10
TTPA (segundos)	24	15	CLIA	9

EMC: especificación mínima consenso.

Tabla VI.
Comparación valor EMC.
Magnitudes Bioquímica y Hematología
vs. especificación variabilidad Biológica
(nivel deseable)

Mensurando Bioquímica	EMC	VB EFLM	DIF VA EMC vs. EFLM
Alanina aminotransferasa	17	16,3	0,7
Albumina	11	3,6	7,4
α -amilasa	18	13,2	4,8
Antígeno CA 125	11	16,1	-5,1
Antígeno CA 19.9	13	37,9	-24,9
Antígeno CA 72.4	11	70,2	-59,2
Antígeno carcinoembriionario	15	26,9	-11,9
Antígeno específico de la próstata	15	16,2	-1,2
Antígeno específico de la próstata libre	13	17,5	-4,5
α 1-antitripsina	13	6,2	6,8
Apolipoproteína A1	12	7,5	4,5

Continúa en la columna siguiente

Tabla VI (Cont.).
Comparación valor EMC.
Magnitudes Bioquímica y Hematología
vs. especificación variabilidad Biológica
(nivel deseable)

Mensurando Bioquímica	EMC	VB EFLM	DIF VA EMC vs. EFLM
Apolipoproteína B	10	11,5	-1,5
Aspartato aminotransferasa	16	13,5	2,5
Ceruloplasmina (ferroxidasa)	12	8	4
Cloruro	6	1,3	4,7
Colesterol	9,1	8,7	0,4
Colesterol de HDL	26	11,1	14,9
Colesterol de LDL	41	13,7	27,3
Complemento C3	10	7,8	2,2
Complemento C4	11	12,1	-1,1
Cortisol	19	32,5	-13,5
Creatina-cinasa	19	22,1	-3,1
Creatinina	22	7,5	14,5
Enolasa específica neuronal	13	14	-1

Continúa en la página siguiente

Tabla VI (Cont.).

Comparación valor EMC.
Magnitudes Bioquímica y Hematología
vs. especificación variabilidad Biológica
(nivel deseable)

Mensurando Bioquímica	EMC	VB EFLM	DIF VA EMC vs. EFLM
Estradiol	21	17,3	3,7
Ferritina	18	13,8	4,2
α1-fetoproteína	18	34,8	-16,8
Folitropina	15	21,2	-6,2
α1-glicoproteína ácida	11	12,4	-1,4
Glucosa	8,4	6,5	1,9
γ-glutamilttransferasa	18	17,8	0,2
Haptoglobina	11	17,1	-6,1
Inmunoglobulina A	15	9,8	5,2
Inmunoglobulina G	12	7,3	4,7
Inmunoglobulina M	18	17,1	0,9
Insulina	38	35,9	2,1
Lactato deshidrogenasa	21	7,7	13,3
Lutropina	14	28,4	-14,4
β2-microglobulina	14	6,4	7,6
Paratirina	23	28,4	-5,4
Potasio	5,4	4,8	0,6
Prealbúmina	16	14,5	1,5
Prolactina	20	24,8	-4,8
Proteína	9	3,5	5,5
Proteína C reactiva	12	50,7	-38,7
Proteína S100	14	17	-3
Sodio	3,2	0,7	2,5
Sulfato de deshidroepian-drosterona	19	10,4	8,6
Testosterona	22	17	5
Tiroglobulina	17	18,5	-1,5
Tirotropina	16	27,9	-11,9
Tiroxina	20	8,7	11,3
Tiroxina libre	16	9,3	6,7
Transferrina	8,3	6,8	1,5
Triglicéridos	14	26,9	-12,9
Triiodotironina	20	11,4	8,6
Triiodotironina libre	12	11,3	0,7

Continúa en la columna siguiente

Tabla VI (Cont.).

Comparación valor EMC.
Magnitudes Bioquímica y Hematología
vs. especificación variabilidad Biológica
(nivel deseable)

Mensurando Bioquímica	EMC	VB EFLM	DIF VA EMC vs. EFLM
Urea	14	17,6	-3,6
Basófilos	100	17,5	82,5
Mensurando Hematología	EMC	VB EFLM	DIF VA EMC vs. EFLM
CHCM	8,2	1,3	6,9
Eosinófilos	29	29,1	-0,1
Eritrocitos	4,1	3,9	0,2
HCM	4,9	1,8	3,1
Hematocrito	8,5	3,9	4,6
Hemoglobina	4,6	3,8	0,8
Leucocitos	10	13,8	-3,8
Linfocitos	19	15,2	3,8
Monocitos	73	17,4	55,6
Neutrófilos	8,4	18,4	-10
Plaquetas	16	9,7	6,3
Reticulocitos (x10 ⁹ /L)	33	15,2	17,8
VCM	7,3	1,6	5,7

EMC: especificación mínima consenso; VB EFLM: valor especificación deseable base de datos EFLM; DIF VA EMC vs. EFLM: diferencia en valor absoluto (EMC - VB EFLM).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se presentan en este artículo (Tabla I) un total de 143 especificaciones de la calidad analítica; este elevado número de magnitudes con valor de especificación nos convierte en el país del mundo con mayor número de especificaciones publicadas, aunque actualmente no están consideradas como preceptivas ni por la administración estatal ni por ninguna comunidad autónoma. Consideramos que las administraciones sanitarias deberían valorar esta posibilidad para garantizar la calidad del proceso analítico de los laboratorios clínicos.

Los valores de las 143 especificaciones tienen un rango muy amplio, desde un error total admisible de 100 en los basófilos (sangre total) hasta 0,2 en pH (sangre total -gasometría-) lo que simplemente demuestra la heterogeneidad de las diferentes metodologías empleadas para la determinación de las distintas pruebas incluidas en los catálogos de los laboratorios clínicos.

Estos valores también están condicionados por los niveles de los controles que implica que, en algunas magnitudes, pequeños cambios en los resultados enviados por cada laboratorio correspondan con un elevado porcentaje en el valor del error total y por ende de la especificación que se obtiene.

En lo que concierne a los ejercicios de comparación, es importante destacar que, aunque se haya incluido un cambio metodológico en el cálculo de la EMC en este periodo respecto al anterior, y se pudiera pensar que se dificulta el ejercicio de comparación entre ambos, en realidad el cambio no interfiere al no aportar ningún sesgo diferencial, por este motivo, podemos deducir tanto de la tabla II (magnitudes de los programas de Bioquímica) como de la tabla III (magnitudes de los programas de Hematología), y a nivel global, que las especificaciones del periodo 2011-15 son más estrictas que las obtenidas en el periodo 2007-2010, lo que podría significar que, de manera general los laboratorios participantes han mejorado sus prestaciones analíticas porque se ha reducido considerablemente el error total.

Centrándonos en las pruebas del área de Bioquímica, es especialmente significativo el descenso del valor de las EMC de algunos de los mensurandos sobre todo del área de Bioquímica, como por ejemplo α -amilasa orina, α -amilasa suero, calcio orina, proteínas en orina, fosfatasa alcalina e inmunoglobulina M que superan las diez unidades, desde el CEIEC consideramos que este descenso se debe a que la tecnología analítica así como el control de los procesos en la fase analítica ha mejorado en los últimos años.

Además de los indicados anteriormente, otras magnitudes en los que también ha descendido significativamente los valores de la especificación han sido los iones (sodio, potasio, cloro) con un descenso porcentual del 36 % para el sodio y del 33 % tanto para potasio como para el cloro, lo que nos lleva a pensar que las nuevas metodologías de medición de los iones, con nuevos módulos implican una mejora en las prestaciones analíticas.

También conviene destacar el descenso observado en la hemoglobina A1c (HbA1c - glucohemoglobina), 12 % a 7,7 %, lo que supone un descenso porcentual del 36 %, seguramente debido a la cada vez mayor estandarización global de los métodos analíticos de la HbA1c, y a la renovación importante que se ha producido en este tipo de sistemas analíticos con equipos que aportan mayor fiabilidad (15).

En el sentido contrario, hay cuatro magnitudes cuyo valor de EMC resulta ser mayor que el obtenido en el periodo anterior, este incremento es escasamente de una o dos unidades, que se puede explicar por un motivo meramente estadístico sin que el citado incremento se deba a una disminución en la prestación de los laboratorios clínicos a este nivel.

En relación a las magnitudes de Hematología, a diferencia de lo que ocurría con los mensurandos incluidos en los programas de Bioquímica, el porcentaje de mag-

nitudes en las que se observa un descenso del valor de la EMC es inferior; en los programas de Bioquímica este descenso es del 83 % (46 de 55), mientras que en el área de Hematología es de un 52 % (11 de 21); esto puede deberse a que en el área de Hematología el desarrollo tecnológico en los analizadores de hematimetría o de los estudios de coagulación no ha sido tan intenso como en el caso del área de Bioquímica.

Además, solo en dos magnitudes se observa un incremento del valor de especificación, siendo el mismo de 1 y 2 unidades respectivamente, lo que tal y como ocurría con las magnitudes de los programas de Bioquímica, se puede explicar por un motivo exclusivamente estadístico, sin poder llegar a cualquier otra conclusión adicional.

En lo que se refiere a la comparación de los valores de EMC con el valor más exigente de las especificaciones preceptivas (Estados Unidos, Alemania o Rusia) es importante destacar que debido al amplio número de magnitudes con EMC que están fijadas en España solo ha sido posible la comparación en un 64 %, es decir en 92 de las 143.

De estas 92 magnitudes (programas de Bioquímica y Hematología tomados conjuntamente), en 63 (68 %) nuestra EMC ha resultado ser similar o más estricta que la más exigente de las preceptivas.

Algunas de las diferencias más significativas en los programas de Bioquímica, las encontramos en los mensurandos asociados a los controles de orina (glucosa, urato), y en los programas de Hematología, están relacionados con los estudios de coagulación: PT (tiempo de protrombina) y TTPa (tiempo de tromboplastina parcial activado).

En definitiva, podemos concluir que, aunque la metodología de obtención de nuestros valores de especificación es completamente diferente al del resto de países con especificaciones perceptivas; en el caso del CLIA y Alemania no citan el procedimiento de obtención más allá de que son elegidas por un Comité y en el caso de Rusia se fundamentan en la variación biológica. Nuestras EMC son equiparables con las de Estados Unidos, Alemania o Rusia y por tanto podrían cumplir con uno de sus fines que es que fueran preceptivas para España.

Asimismo, las entidades certificadoras y acreditadoras de Modelos de Gestión de la Calidad (ISO 9001 y ISO 15189, respectivamente), en sus auditorías podrían utilizar estas EMC como un requisito mínimo que debe cumplir cualquier laboratorio clínico que tenga implantado un Sistema de Gestión de la Calidad para comprobar que el proceso analítico cumple mínimamente con lo establecido.

Del ejercicio de comparación de las EMC con los valores obtenidos de la variabilidad biológica, podemos observar que el número de magnitudes en el área de Bioquímica en las que se obtiene un mayor nivel de exigencia es muy similar en ambas fuentes de obtención del valor de la especificación, 24 magnitudes más estricta la EMC y 28 más estricta según VB.

Las diferencias más significativas las encontramos en los mensurandos asociados a marcadores tumorales (CA 19.9, CA 72.4), colesterol LDL y proteína C reactiva, esto se debe a que las EMC están basadas en el estado del arte y las especificaciones según variabilidad biológica en el equilibrio homeostático del organismo, en algunos mensurandos (CA 19.9, CA 72.4 o PCR) la tecnología analítica disponible permite fijar unas especificaciones más estrictas que la variabilidad biológica y en cambio en otras como el colesterol de LDL es al revés.

En las magnitudes de Hematología, por el contrario, este comportamiento no es tan similar; de las 14 magnitudes que se ha podido realizar la comparativa, en 9 (65 %) la especificación obtenida según variación biológica es más estricta que la EMC, las diferencias más significativas las encontramos en los basófilos y monocitos, en estas magnitudes los valores absolutos son bajos lo que implica que el error total en porcentaje de los diferentes laboratorios es elevado, lo que lleva a la obtención de una EMC con un valor bastante alto.

Esta similitud en términos globales, en lo referente a la dificultad de cumplimiento, entre las EMC y los valores obtenidos según variabilidad biológica, que se observa fundamentalmente en las magnitudes de Bioquímica va en sintonía con los artículos publicados por Sandberg y cols. (6) o por Ceriotti y cols. (16) donde se afirma que entre los diferentes modelos de establecimiento de especificaciones de calidad en la Conferencia Consenso de Milán de 2014, no está establecida una filosofía jerárquica estricta, algunos modelos pueden ser más adecuados que otros según la magnitud y el fin previsto para la misma (diagnóstico, seguimiento, investigación etc.).

En este tipo de parámetros la tecnología disponible actualmente no es capaz de lograr obtener un rendimiento analítico que pueda asegurar el cumplimiento de los objetivos según el nivel II de la Conferencia Consenso de Milán y por ello el laboratorio puede utilizar las EMC como objetivo de calidad analítico.

Por el contrario, en aquellas magnitudes con EMC más estricta que la variabilidad biológica consideramos que los laboratorios clínicos deberían utilizar las EMC como especificación a alcanzar.

Como conclusión final del trabajo podemos decir que se presentan valores de especificación de calidad obtenidas para 143 magnitudes del laboratorio clínico que deben ser consideradas por éstos para establecer un objetivo mínimo de calidad asistencial del proceso analítico y que en los distintos ejercicios de comparación realizados, estos valores obtenidos son perfectamente equiparables en cuanto a su dificultad de cumplimiento con las preceptivas de otros países y con las obtenidas según variabilidad biológica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buño A, Calafell R, Moranco J, Ramón F, Ricós C, Salas A. Consenso sobre especificaciones mínimas de la calidad analítica. *Lab Clin* 2008;1:35-9. DOI: 10.1016/S1888-4008(08)74953-5
2. Calafell R, Gutiérrez G, Jou JM, Moranco J, Ramón F, Ricós C, et al. Consenso sobre especificaciones mínimas de la calidad analítica para magnitudes hematológicas y de Bioquímica especial. *Rev Lab Clin* 2010;3:87-93. DOI: 10.1016/j.labcli.2010.02.002
3. Ricós C, Ramón F, Salas A, Buño A, Calafell R, Moranco J, et al. Minimum analytical quality specifications of interlaboratory comparisons: Agreement among Spanish EQA organizers. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:455-61. DOI: 10.1515/CCLM.2011.787
4. Moranco J, Prada P, Gutiérrez-Bassini G, Salas A, Blázquez R, Jou JM, et al. Actualización de las especificaciones de la calidad analítica 2014. Consenso de las Sociedades Científicas nacionales. *Rev Lab Clin*. 2014;7(1):3-8 DOI: 10.1016/j.labcli.2014.01.002
5. Gutiérrez G, Jou J, Barceló B, Blázquez R, Moranco J, Ramón F, et al. Aplicación práctica de las especificaciones mínimas de la calidad analítica obtenidas por consenso. *Rev Lab Clin* 2013;6:68-74. DOI: 10.1016/j.labcli.2013.01.005
6. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine *Clin Chem Lab Med* 2015;53(6):833-5. DOI: 10.1515/cclm-2015-0067
7. Web de la Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio. Disponible en: <https://www.aebm.org/comites-main/comite-de-calidad-gestion-seguridad-y-evidencia/617-documento-con-las-especificaciones-de-calidad-minimas-en-el-laboratorio-clinico-actualizado-a-17-de-noviembre-de-2017.html> (consultado 02/11/2020).
8. Web de la Asociación Española del Laboratorio Clínico. Disponible en <http://www.aefa.es/especificaciones-minimas-consenso/> (consultado 02/11/2020).
9. Web de la Sociedad Española de Medicina del Laboratorio. Disponible en <https://www.seqc.es/download/comite/7/4384/1727928566/653219/cms/especificaciones-minimas-de-consenso-2017.pdf/> (consultado 02/11/2020).
10. Web de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Disponible en [https://www.sehh.es/calidad/programa-de-garantia-externa-calidad?highlight=WyJlc3BIY2lmaWNhY2lvbmVzIl0=\(consultado 02/11/2020\)](https://www.sehh.es/calidad/programa-de-garantia-externa-calidad?highlight=WyJlc3BIY2lmaWNhY2lvbmVzIl0=(consultado 02/11/2020)).
11. CMS, CDC, HSS. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Proficiency Testing Regulations Related to Analytes and Acceptable Performance. *Fed Reg* 2019;84:1536-67.
12. Neufassung der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – Rili-BÄK. Available from: www.bundesaerztekammer.de/rilibaek2019
13. Clinical laboratory technologies. Quality control of clinical laboratory tests. Part 1. Limits of allowable errors of the results of the analyte measurements in clinical-diagnostics laboratories. Federal Agency on Technical Regulation and Metrology: Moscow 2008:1-27 (in Russian). National Standard of Russian Federation 53133.1-2008 (GOST 53133.1-2008)
14. Web de la European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). Biological Variation Database. Available from: <https://biologicalvariation.eu> (consultado 02/11/2020).
15. Goberna R, Aguilar-Diosdado M, Santos-Reya K, Mateo J. Armonización de resultados de HbA1c en España. *Rev Lab Clin* 2009;2(1):56-8. DOI: 10.1016/j.labcli.2008.11.002
16. Ceriotti F, Fernandez-Calle P, Klee GG, Nordin G, Sandberg S, Streichert T, et al. Criteria for assigning laboratory measurands to models for analytical performance specifications defined in the 1st EFLM Strategic Conference. *Clin Chem Lab Med* 2017;55(2):189-94. DOI: 10.1515/cclm-2016-0091



Revisión

RAD51C y RAD51D en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario

RAD51C and RAD51D in the hereditary breast and ovarian cancer syndrome

Ana Isabel Sánchez Bermúdez, M.^a Desamparados Sarabia Meseguer,
Verónica Guardiola Castillo, Francisco Ruiz Espejo y José Antonio Noguera Velasco

Laboratorio de Diagnóstico Genético, Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Recibido: 24/04/2020
Aceptado: 06/10/2020

Correspondencia: Ana Isabel Sánchez Bermúdez. Laboratorio de Diagnóstico Genético, Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. Madrid-Cartagena, s/n. 30120 El Palmar, Murcia
e-mail: ana.sanchez.bermudez@gmail.com

Palabras clave:

RAD51C. RAD51D. Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. Recombinación homóloga.

RESUMEN

El riesgo de cáncer de mama se duplica en parientes de primer grado de mujeres con cáncer de mama, mientras que el de cáncer de ovario se triplica con parientes afectas de esta enfermedad comparadas con mujeres sin antecedentes familiares. El síndrome más frecuente de predisposición hereditaria para estos tipos de cáncer es el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. Este síndrome está relacionado principalmente con alteraciones germinales en los genes *BRCA1* (*breast cancer 1*) y *BRCA2* (*breast cancer 2*), pero el estudio de otros genes de susceptibilidad es actualmente un campo muy activo. Este trabajo se centra en la implicación de los genes *RAD51C* y *RAD51D* en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. El objetivo del estudio es conocer la relación molecular de estos genes con *BRCA1* y *BRCA2* mediante el mecanismo de recombinación homóloga y realizar un análisis de prevalencia mutacional de *RAD51C* y *RAD51D* en trabajos publicados hasta ahora con el fin de aportar información sobre la relación genotipo-fenotipo dentro de las familias con síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. La prevalencia mutacional encontrada en *RAD51C* y *RAD51D* oscila entre un 0 % y 2,9 %

Agradecimientos: la Asociación Española de Laboratorio Clínico (AEFA), ha apoyado y colaborado con este proyecto mediante la dotación de la beca AEFA posresidencia.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00024

Sánchez Bermúdez AI, Sarabia Meseguer MD, Guardiola Castillo V, Ruiz Espejo F, Noguera Velasco JA. *RAD51C* y *RAD51D* en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. Rev Med Lab 2020;1(3):108-119

y entre 0,2 % y 2,1 %, respectivamente, variando notablemente en función de la población a estudio y el fenotipo familiar. La mayor prevalencia mutacional en ambos genes se encontró en familias en las que coexistían ambos tumores.

Keywords:

RAD51C. *RAD51D*. Hereditary breast and ovarian cancer syndrome. Homologous recombination.

ABSTRACT

The risk of breast cancer doubles in first-degree relatives of women with breast cancer, while the risk of ovarian cancer triples in relatives affected by this disease compared with women with no family history. The most common inherited predisposition syndrome for these cancers is the hereditary breast and ovarian cancer syndrome. This syndrome is mainly related to germline alterations in the *BRCA1* and *BRCA2* genes, but the study of other susceptibility genes is currently a very active research field. This work focuses on the involvement of the *RAD51C* and *RAD51D* genes in hereditary breast and ovarian cancer syndrome. The aim of the study is to know the molecular relationship of these genes with *BRCA1* and *BRCA2* through the *homologous recombination* mechanism and to carry out a mutational prevalence analysis of *RAD51C* and *RAD51D* in works published to date, in order to provide information about the genotype-phenotype relationship within families with hereditary breast and ovarian cancer syndrome. The mutational prevalence found in *RAD51C* and *RAD51D* ranges between 0 % and 2.9 % and between 0.2 % and 2.1 %, respectively, varying notably depending on the study population and the family phenotype. The highest mutational prevalence in both genes was found in families in which breast cancer and ovarian cancer coexisted.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario (SCMOH) representa a un grupo de familias en las que se observa un incremento de riesgo a desarrollar estas patologías y otros cánceres asociados (como páncreas y próstata), a una menor edad de diagnóstico comparado con la población general, y la aparición de varios tumores en el mismo individuo, ya sean sincrónicos o metacrónicos, entre otras características (1). Este síndrome está relacionado principalmente con alteraciones germinales en los genes *BRCA1* (*breast cancer 1*) (OMIM*113705) y *BRCA2* (*breast cancer 2*) (OMIM*600185) (2). Estos dos genes juegan un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad genómica mediante la reparación de las roturas de doble cadena de ADN (*DNA double-strand breaks*, DSBs). Ambos son genes de alta penetrancia, mutaciones en *BRCA1* y *BRCA2* confieren un riesgo acumulado promedio del 65 % y 45 % para el cáncer de mama (CM) y del 39 % y 11 % para el cáncer de ovario (CO) a la edad de 70 años, respectivamente (3).

Hasta hace poco tiempo, el test genético aplicado a individuos de alto riesgo, se limitaba principalmente a *BRCA1* y *BRCA2*, pero gracias al desarrollo de las técnicas de secuenciación masiva (*next-generation sequencing*, NGS), se han incrementado los genes analizados con el fin de explicar la predisposición al cáncer de estas familias. Debido a su relación con los genes *BRCA*,

se han estudiado genes de reparación de desajustes (*mismatch repair*) (MMR) (*MLH1*, *MSH2*, *PMS1*, *PMS2* y *MSH6*) y genes de la recombinación homóloga (*ATM*, *CHEK2*, *PALB2* o parálogos de *RAD51*, *RAD51C* y *RAD51D*).

Por su alta implicación en los mecanismos de reparación y su interacción con *BRCA1* y *BRCA2*, *RAD51C* y *RAD51D* son dos genes a los que se extiende el estudio genético de las familias con SCMOH en la actualidad. Son clasificados como genes de moderada penetrancia, y se estima que confieren un riesgo relativo de cáncer de entre 1,5 y 5. El objetivo de este trabajo, es realizar una revisión acerca del mecanismo de implicación en la estabilidad genética celular de estas proteínas y de la prevalencia mutacional observada en los estudios realizados hasta el momento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio de prevalencia mutacional por fenotipo, se realizó una búsqueda en la base de datos PubMed de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) sobre mutaciones *RAD51C* y *RAD51D* y se seleccionaron aquellos estudios realizados hasta diciembre de 2019 en los que se especificara el fenotipo familiar, excluyendo aquellos en los que no se recogía este dato. Sobre *RAD51C* se seleccionaron 17 artículos y sobre *RAD51D* se seleccionaron 9.

Mecanismos moleculares

Recombinación homóloga

El mecanismo de recombinación homóloga (RH) se define por la búsqueda de homología seguida por el apareamiento, el intercambio y la regeneración entre cadenas homólogas. Desempeña un papel importante en la reparación de las DSBs, corrigiendo algunos errores que pudieran surgir en la horquilla de replicación (4). Merece la pena señalar que la RH está involucrada en el mantenimiento telomérico en aquellas células que no poseen telomerasas y elongan los telómeros por un mecanismo alternativo (ALT: *alternative lengthening of telomeres*) (5).

Anormalidades en la vía de RH causan inestabilidad genómica y reordenamientos cromosómicos y han sido asociadas con enfermedades genéticas incluyendo ataxia-telangiectasia, síndrome de Nijmegen *break*, anemia de Fanconi (AF) o síndrome de Bloom. La inestabilidad genómica derivada de la alteración de RH también ha sido relacionada con el proceso de carcinogénesis (6).

Concretamente, la RH consta de las siguientes etapas (Fig. 1). Tras la detección de DSBs, en la etapa inicial, se desencadena una cascada iniciada por las proteínas quinasas ATM y ATR que fosforilan sustratos requeridos para llevar a cabo el proceso como son las proteínas CHEK2, P53, BRCA1 y H2AX. BRCA1, con la colaboración de BARD1 y BRIP1, actúa de mediador para reclutar y organizar las proteínas en los sitios de reparación. El complejo MRN, formado por MRE11, RAD50 y NBS1, degrada los extremos del DSB gracias a su actividad exonucleasa 5'-3' y deja los extremos 3' en forma de ADN monocatenario (ssDNA). A continuación, la proteína de replicación A (RPA) y RAD52 se unen al extremo 3' de la hebra sencilla de ADN para proteger el ADN y prevenir la formación de estructuras secundarias. Es BRCA2, mediante la unión con PALB2, quien recluta a RAD51. Aunque es la proteína RAD51 quien lleva a cabo el paso bioquímico definitivo del mecanismo de RH, es BRCA2 quien permite la traslocación nuclear de RAD51 y favorece su unión al ssDNA para formar una estructura llamada nucleofilamento. Una vez formado el nucleofilamento proteico de monómeros

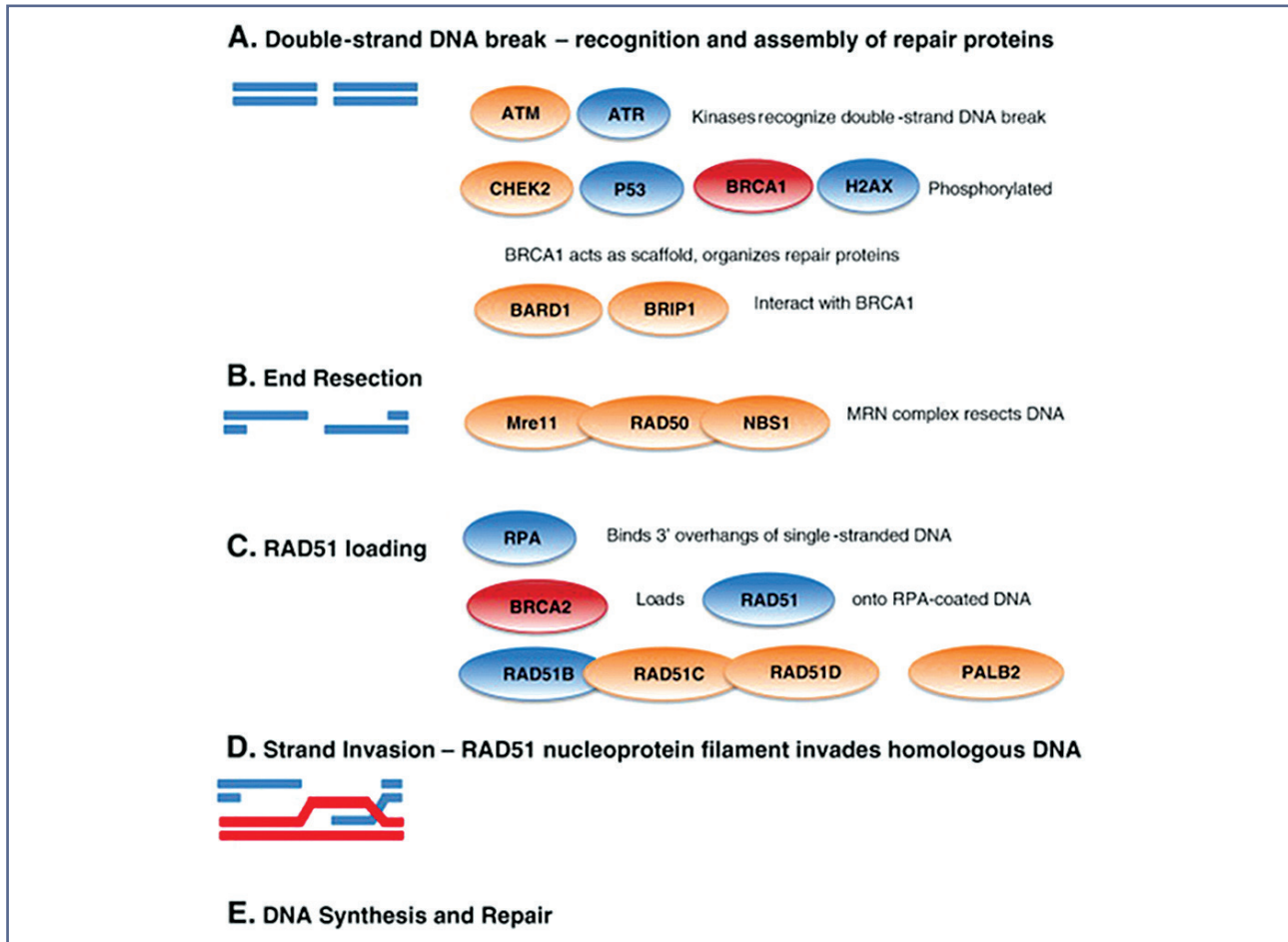


Figura 1 – Etapas del proceso de recombinación homóloga. A. Reconocimiento del daño en la doble hebra. B. Corte del ADN por el complejo MRN. C. Formación de filamento de nucleoproteína RAD51 y traslocación mediada por BRCA2. D. El filamento RAD51 invade el ADN homólogo. E. Síntesis y reparación del ADN. Tomado de Walsh y cols. 2015 (7).

de RAD51, se produce el intercambio de las hebras homólogas durante el cual el ssDNA invade el ADN dúplex homólogo, desplazando la hebra idéntica del dúplex y la formación de un bucle de desplazamiento. Por último, se inicia la síntesis de la nueva cadena de ADN por una polimerasa. La estructura es resuelta por enzimas helicadas y ligasas específicas. De esta manera la RH repara el ADN con fidelidad usando la cromátida hermana como un molde para la síntesis de la nueva cadena de ADN intacta.

RAD51 y parálogos de RAD51

La proteína RAD51 es una recombinasa, con actividad ATPasa, que polimeriza alrededor de la ssDNA formando un nucleofilamento proteico cuya función es la búsqueda de homología y la invasión de la hebra homóloga de ADN.

Los parálogos de RAD51 tienen un importante papel en el mantenimiento de la estabilidad genómica mediante la reparación del ADN. Se han identificado 5 parálogos RAD51 en vertebrados, que interactúan unos con otros para constituir dos complejos, RAD51B-RAD51C-RAD51D-XRCC2 (*BCDX2 complex*) y RAD51C-XRCC3 (*CX3 complex*).

Respecto a su estructura, destacar que tienen una organización molecular muy similar, conservada a través de la escala evolutiva. Comparten entre el 20-30 % de la secuencia de aminoácidos entre sí. Esta secuencia conservada se encuentra predominantemente en el dominio de ATPasa (8).

RAD51C

Dentro de los parálogos de RAD51 podríamos destacar a RAD51C/FANCO bien por su papel en el mantenimiento de la integridad genómica o bien por su relación en AF y en el SCMOH. Aunque los mecanismos no están del todo claros, se le han atribuido numerosas funciones celulares (Fig. 2).

Badie y cols. le atribuyen a RAD51C un papel inicial en la reparación de DSB y lo catalogan como una proteína de señalización del daño en el ADN (Fig. 2a). RAD51C es requerido para la fosforilación de CHEK2 por ATM, por lo que esta teoría convierte a RAD51C en una proteína reguladora del ciclo celular (9) (Fig. 2d).

Durante el proceso de RH, se postula a RAD51C y a otros parálogos como promotores de la formación del nucleofilamento proteico de RAD51 (10,11) (Fig. 2b). Otros datos sostienen una función de RAD51C en un estadio tardío de la RH, implicado en la resolución de los *Holliday junctions* (HJ) (12) (Fig. 2c).

Existen estudios que demuestran la participación de RAD51C en la ruta de reparación de entrecruzamientos intercatenarios (*interstrand DNA crosslinks*) (ICLs) mediada por las proteínas AF (proteínas de la anemia de Fanconi) (13) (Fig. 2f).

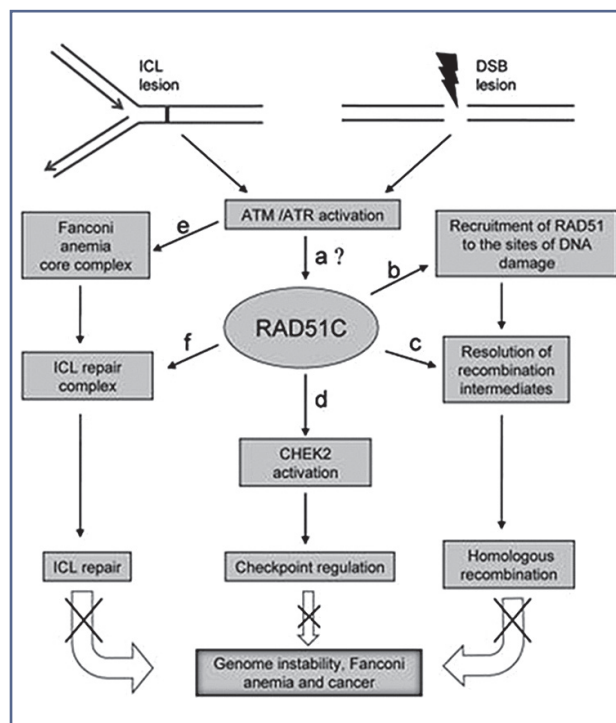


Figura 2 – Esquema de las funciones de RAD51C. a. Señalizador de roturas de doble cadena de ADN (DSB) mediada por ATM/ATR. b. Promotor de la formación de nucleofilamentos de RAD51. c. Resolución de los entrecruzamientos Holliday junctions en la recombinación homóloga. d. Regulador del ciclo celular mediante la activación de CHEK2. e. Activación del complejo AF en respuesta a entrecruzamientos intercatenarios mediante ATR quinasa. f. Detección de entrecruzamientos intercatenarios (ICL). Tomado de Somyajit y cols., 2010 (14).

RAD51D

El papel que juega RAD51D en la RH no está del todo claro. Forma complejo con RAD51B, RAD51C y XRCC2 (*BCDX2 complex*). La actividad de este complejo todavía no está bien definida *in vivo*, pero se une predominantemente a la intersección de los cuatro brazos de la unión tipo *Holliday* (HJ). RAD51D puede formar un subcomplejo con XRCC2 que posee actividad ATPasa sustancialmente estimulada en presencia de ADN de cadena sencilla. Se cree que el complejo RAD51D-XRCC2 se une a una helicasa para interrumpir la estructura generada por la invasión de la hebra de ADN monocatenaria hacia su cromátida homóloga (*Holliday junctions*) (15).

RAD51D juega un papel importante en la protección de los telómeros. Se sabe que la enzima telomerasa es la principal vía de elongación de los telómeros, sin embargo, la RH puede ser un mecanismo alternativo del mantenimiento de la longitud de los telómeros y supervivencia celular. En un modelo celular con depleción de RAD51D en células con ausencia o inactivación de telomerasa se vio reducción de los telómeros y un aumento en la incidencia de fusiones teloméricas (16).

RAD51C y RAD51D como genes de susceptibilidad al cáncer

Prevalencia mutacional de RAD51C

El gen *RAD51C* (OMIM* 602774) fue identificado inicialmente en una familia con fenotipo de anemia de Fanconi en la que se detectó una variante de cambio de sentido (*missense*) en homocigosis (13). Además, mutaciones bialélicas en otros genes de RH (*BRCA2*, *PALB2* y *BRIP1*) se han descrito en este tipo de síndrome. Más adelante, la evidencia de que la familia *RAD51* son genes supresores de tumores se hizo realidad a partir de estudios de *RAD51C* y *RAD51D*.

El primer estudio realizado en familias con SCMOH fue publicado por Meindl y cols. en 2010. Se analizó *RAD51C* en 1.100 casos índice de familias alemanas con CM y CO sin variantes patogénicas detectadas en *BRCA1* ni en *BRCA2* y se identificaron seis mutaciones monoalélicas que conferirían un aumento de riesgo para CM y CO. El patrón de segregación de las seis familias fue completo ya que todos los familiares de primer grado afectados fueron portadores. Los amplios estudios de segregación, pérdida de heterocigosidad y funcionalidad de las variantes encontradas, aportaron evidencias para pensar que estas familias se comportarían de forma muy similar a las portadoras de mutación *BRCA1/2* (17).

Desde entonces, tanto a nivel nacional como internacional, se han realizado múltiples estudios sobre distintas poblaciones obteniendo resultados dispares, con tasas de mutación de entre 0 y 2,9 % (17-29). Estas diferencias de prevalencia podrían ser debidas a la baja frecuencia de variantes patogénicas de estos genes o a las diferencias en los criterios de selección utilizados. Además, es importante tener en cuenta que existen características específicas de las poblaciones que afectan de forma considerable a las frecuencias poblacionales. Un ejemplo de esas características específicas puede ser la presencia del efecto fundador de una variante en una población. En la tabla I se recoge un resumen de los trabajos realizados hasta la fecha más destacados. Se incluyeron 17 estudios en los que se detectaron variantes patogénicas de este gen. Las prevalencias más altas se describen en un estudio sobre población francesa (2,6 %) (30) y otro en Reino Unido (2,9 %) (31). Sin embargo, en 8 de los estudios incluidos no se detectaron variantes patogénicas en los grupos de estudio.

RAD51C en familias con CM y CO

Desde el primer estudio publicado por Meindl y cols., en 2010, ya se evidenció una mayor asociación de mutaciones en *RAD51C* con familias en las que coexistía el CM y CO. Se detectaron 6 variantes patogénicas en 480 familias con este fenotipo (1,3 %) y ninguna en 620 familias con fenotipo exclusivamente de CM. En las seis familias portadoras la media de edad al diagnóstico de CM fue de 53 (33-78) años y la de CO de 60 (50-81) años (17).

Loveday y cols., en un amplio estudio, recogieron 1.102 familias del Reino Unido con historia de CM y CO e identificaron 8 variantes patogénicas (0,7 %). La prevalencia fue mayor en familias con múltiples casos de CO (1,3 % en familias con dos o más casos y un 3 % en familias con 3 o más) (32).

Pelttari y cols., realizaron un análisis de 277 familias: 130 con historia exclusivamente de CM, 139 familias en las que coexistía CM y CO y 8 con casos de CO únicamente. Entre estas familias se identificaron dos variantes patogénicas recurrentes en 4 familias (c.93delG y c.837 + 1G>A). La delección se determinó en una familia con 4 CM y un familiar con CM y CO y en otra familia en la que únicamente había dos casos de CO. La variante c.837+1G>A se detectó en una familia con CM y CO y en una familia con ovario exclusivamente. En total, se obtuvo un rendimiento de 1,4 % en familias con fenotipo de CM y CO (2/139). Debido a los resultados obtenidos, Pelttari continuó el estudio realizando un *screening* de estas dos variantes en la población finlandesa concluyendo que estas variantes patogénicas en *RAD51C* fueron asociadas a un aumento de riesgo de CM y CO (OR = 13,59, IC95 % 1,89-94,6) (18).

En población española se han realizado cuatro estudios en familias con CM y CO. En el primero de ellos, realizado en 2011 por Romero y cols., solo se detectó una variante patogénica de *RAD51C* en las 492 (0,2 %) familias estudiadas (26). Curiosamente, el portador de la variante (c.774delT) fue sueco. Esa mutación fue descrita por Vuorela y cols. en un caso de cáncer de ovario en un estudio sobre población sueca y finlandesa (29). Ya en 2012, Osorio y cols. publicaron un trabajo sobre 785 familias españolas en las que se identificaron 17 variantes, 5 de ellas patogénicas (27). En este estudio, se incluyó la familia descrita anteriormente por Romero y cols., por lo tanto, para la realización del resumen solo se tuvo en cuenta el más amplio de estos dos estudios (Osorio y cols.). En 2014, Blanco y cols. detectaron 3 variantes patogénicas en una cohorte de 516 familias (0,6 %) (28). El más reciente estudio sobre población española fue publicado por Sánchez-Bermúdez y cols. en 2018, donde se obtuvo una tasa mutacional de *RAD51C* de 0,7 % (1/141) (33).

Recopilando todos los estudios, hasta ahora las variantes patogénicas que fueron identificadas en este grupo de familias sumaron un total de 38, y teniendo en cuenta que se estudiaron 4.009, se obtuvo una prevalencia global de 0,9 %.

RAD51C en familias con CO

Los estudios realizados hasta el momento cuentan con un número menor de familias con fenotipo exclusivamente de CO. Loveday y cols. detectaron una variante patogénica en 30 familias con CO exclusivamente. Estos autores estimaron el riesgo relativo de CO para portadores de variantes patogénicas de *RAD51C* en un 5,88 (IC95 %: 2,91-11,88) (32).

Coulet y cols. identificaron una mutación en una cohorte de 35 pacientes con CO, 8 de los cuales tenían al menos, un familiar con CO (2,9 %) (30).

En el estudio realizado por Thompson y cols. sobre 1.338 familias se detectaron 3 variantes patogénicas, una de ellas entre las 21 familias con fenotipo exclusivamente de CO (4,8 %) (19).

Pelttari y cols. realizaron un análisis de 277 familias. Dentro de 8 familias con casos de CO únicamente se detectaron dos variantes patogénicas, c.93delG y c.837 + 1G>A, obteniendo un rendimiento de 25 % en familias con fenotipo de CO (2/8). Tras ampliar el estudio sobre estas dos variantes en una amplia cohorte de pacientes, se concluyó que variantes patogénicas en *RAD51C* se asociaban especialmente con un aumento de riesgo para CO en ausencia de CM (OR = 213,95 IC95 % 25,6-1.769), incluso en CO sin historia familiar (OR = 6,31 IC95 % 1,15-34,6) (18).

Globalmente, se han estudiado 666 familias con este fenotipo detectándose 8 variantes patogénicas en total, lo que significa una prevalencia de 1,2 %. Sin embargo, en los estudios sobre población española, no se identificó ninguna variante patogénica en las 16 familias estudiadas por Sánchez-Bermúdez y col. con dicho fenotipo, ni en las 17 estudiadas por Blanco y cols. (Tabla I).

RAD51C en CO sin historia familiar

Cuatro grandes trabajos han estudiado la prevalencia de mutaciones en *RAD51C* sobre casos de CO sin antecedentes familiares de CM y CO.

Loveday y cols. detectaron 3 variantes patogénicas en 272 casos de CO sin historia familiar, con una prevalencia del 1,1 % (32).

Thompson y cols. incluyeron 267 CO sin historia familiar obteniendo una única variante patogénica entre todos ellos (0,4 %) (19).

Cunningham y cols. identificaron mutaciones de *RAD51C* en 26 casos de 899 CO sin antecedentes familiares, obteniendo una frecuencia mutacional del 2,9 % (31). Si bien es cierto, esta última cifra podría estar sobreestimada por los autores ya que se incluyeron como mutaciones tres variantes de cambio de sentido (*missense*) A126T, T287A y Gly264Ser, las cuales estaban categorizadas en otros estudios como no patogénicas.

Por último, un estudio realizado por Pennington y cols. obtuvo una frecuencia mutacional de un 1 % sobre 311 CO sin antecedentes familiares (34).

Entre todos los estudios publicados sobre este grupo de familias, se han detectado 39 mutaciones sobre 2492 casos estudiados, con una frecuencia mutacional del 1,5 %. Si excluimos el estudio realizado por Cunningham y cols., la prevalencia de mutaciones de *RAD51C* en casos de CO sin antecedentes familiares estaría en 0,8 %.

RAD51C en familias con CM

A pesar de que la relación entre mutaciones de *RAD51C* y el CO está mucho más clara, no se debe perder de vista su implicación en el CM.

Osorio y cols. identificaron la variante de cambio de sentido (*missense*) c.428A>G (p.Gln143Arg) en 1 de las 438 familias con CM exclusivamente (0,2 %) (variante catalogada como patogénica mediante ensayos funcionales) (27).

Blanco y cols. detectaron la mutación c.577C>T (p.Arg193Stop) en una de las 410 familias CM y Schurbein y cols. encontraron una gran deleción del exón 5 al 9 en dos familias, una de ellas sin individuos afectados de CO (28,35).

Jonson y cols. detectaron sobre población danesa 5 variantes patogénicas en 6 familias sobre 1228 individuos (0,5 %). En este trabajo, 4 de las familias no tenían ningún caso de cáncer de ovario familiar, incluso dos de ellas solo presentaron un caso de CM a edad temprana (36).

Golmard y cols. detectaron 3 mutaciones sobre 2063 familias con este fenotipo. Recogiendo estos estudios, se han detectado 10 variantes patogénicas sobre 6107 familias estudiadas con fenotipo de CM exclusivamente (0,16 %).

Prevalencia mutacional de RAD51D

Para el estudio mutacional de *RAD51D* se seleccionaron 9 estudios en los que la prevalencia mutacional varía en un rango de entre 0,2 y 2,1 % (37-42). Las características específicas de las poblaciones estudiadas fueron un factor a tener en cuenta a la hora de realizar comparaciones entre estudios. En el caso de *RAD51D*, se detectó la presencia de un efecto fundador de una variante en población finlandesa, siendo la mayor prevalencia mutacional descrita hasta la fecha, un 2,1 % (39) (Tabla II).

RAD51D en familias con CM y CO

Como ocurre con *RAD51C*, las familias con CM y CO fueron el grupo de riesgo donde mayor rendimiento diagnóstico del estudio genético de *RAD51D* se obtuvo globalmente.

Desde un principio, Loveday y cols. en 2011 detectaron 8 variantes patogénicas en una cohorte de 1648 familias. Todas las variantes patogénicas se detectaron en las 911 familias con CM y CO (0,88 %) (38).

Osher y cols. ya en 2012 realizaron un screening sobre 175 familias con este fenotipo, detectando una variante patogénica (0,57 %) (37).

Es el estudio de Pelttari y cols. donde se detectó una mayor prevalencia mutacional en estas familias, 2 familias con la misma variante patogénica, c.576+1G>A, entre las 40 seleccionadas con este fenotipo (5 %).

Tabla I.
Resumen de los estudios incluidos sobre RAD51C

RAD51C	Pacientes analizados							Mutaciones						
	Autor	País	Total	CM	CM y CO	CO	uCO	Control	Total	CM	CM y CO	CO	uCO	Control
Meindl y cols. (2010) (17)	Alemania	1100	620	480	0	0	0	0	6 (0,50)	0	6 (1,25)	0	0	0
Pelttari y cols. (2011) (18)	Finlandia	2747	130+491+884+686	139	8	409	2086	8 (0,30)	0+0+0+0	2 (1,40)	2 (25,00)	4 (1,00)	2 (0,10)	
Vuorela y cols. (2011) (29)	Finlandia y Suecia	1936	112+993	35	0	232 + 332	871	2 (0,10)	0	1 (2,80)	0	1 (0,40) + 0	0	
Loveday y cols. (2011) (38)	UK	1404	0	1102	30	272	1156	12 (0,90)	0	8 (0,70)	1 (3,30)	3 (1,10)	1 (0,09)	
Osorio y cols. (2012) (27)	España	785	485	300	0	0	550	5 (0,60)	1 (0,20)	4 (1,30)	0	0 [0]	0 [0]	
Romero y cols. (2011) (26)	España	492	391	101	[0]	[0]	[0]	[1(0,20)]	[0]	[1 (1,00)]	[0]			
Thompson y cols. (2012) (19)	Australia	1655	1053	314	21	267	427	3 (0,20)	0	1 (0,30)	1 (4,80)	1 (0,40)	0	
Coulet y cols. (2013) (30)	Francia	117	0	82	35	0	0	3 (2,60)	0	2 (2,40)	1 (2,90)	0	0	
Schnurbein y cols. (2013) (35)	Alemania	825	500	325	0	0	0	2 (0,30)	1 (0,20)	1 (0,30)	0	0	0	
Pennington (2014) (34)	EE. UU.	311	0	0	0	311	0	2 (1,00)	0	0	0	2 (1,00)	0	
Cunningham y cols. (2014) (31)	UK	899	0	0	0	899	0	26 (2,90)	0	0	0	26 (2,90)	0	
Blanco y cols. (2014) (28)	España	516	410	89	17	0	0	3 (0,60)	1 (0,24)	2 (2,20)	0	0	0	
Jonson y cols. (2016) (36)	EE. UU.	1228	-	-	-	0	0	6 (0,50)	4	2	0	0	0	
Golmard y col (2017) (44)	Francia	2649	2063	538	32	0	0	12 (0,50)	3 (0,20)	8 (1,50)	1 (3,10)	0	0	
Hirasawa y cols. (2017)	Japón	230	0	32	198	-	-	3 (1,30)	0	1 (3,10)	2 (1,00)	-	-	
Eoh y cols. (2017) (57)	Corea	117	-	-	64	53	-	2 (1,70)	-	-	0	2 (3,70)	-	
Sánchez y cols. (2018) (33)	España	148	58	67	16	0	150	1 (0,70)	0	1 (1,49)	0	0	0	
Akbari y cols. (2010) (22)	Judíos, Francia-Canadá	454	-	-	-	0	0	0	-	-	-	0	0	
Zheng y cols. (2010) (21)	EE. UU.	92	0	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Clague y cols. (2011) (24)	EE. UU.	286	113	34	119	0	0	0	0	0	0	0	0	
Wong y cols. (2011) (58)	Australia	70	67	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
De Leeneer cols. (2012) (59)	Bélgica, Holanda	351	0	239	112	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kushnir y cols. (2012) (60)	Judíos	206	190	2	14	0	200	0	0	0	0	0	0	
Lu y cols. (2012) (25)	EE. UU.	192	157	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total		18.810	6107	4009	666	2492	5440	98 (0,50)	10 (0,16)	38 (0,90)	8 (1,20)	39 (1,50)	3 (0,05)	

CM: cáncer de mama; CM y CO: cáncer de mama y ovario; CO: cáncer de ovario; uCO: cáncer de ovario sin historia familiar previa. Ente paréntesis: rendimiento diagnóstico del análisis del gen RAD51C (%). []: Mutaciones incluidas en dos estudios; Osorio y cols. y Romero y cols. Solo contabilizadas en uno de ellos.

Tabla II.
Resumen de los estudios incluidos sobre RAD51D

RAD51D	Pacientes analizados						Mutaciones						
	Autor	País	Total	CM	CM y CO	CO	Control	Total	CM	CM y CO	CO	uCO	Control
	Loveday y cols. (2011) (38)	UK	1648	737	911	0	0	8 (0,50)	0	8 (0,88)	0	0	1
	Osher y cols. (2012) (37)	Canadá y Bélgica	175	0	175	0	0	1 (0,60)	0	1 (0,57)	0	0	0
	Wickramanyake y cols. (2012) (42)	EE. UU.	586	226	0	0	360	3 (0,50)	0	0	0	3 (0,83)	0
	Pelttari y cols. (2012) (39)	Finlandia	95	51	40	4	0	2 (2,10)	0	2 (5,00)	0	0	0
	Thompson y cols. (2013) (43)	UK, Australia	1060	741	303	16	245	2 (0,20)	0	0	0	2 (0,80)	1
	Gutiérrez-Enríquez (2014) (40)	España	842	171	491	51	129	4 (0,50)	0	4 (0,81)	0	0	0
	Song y cols. (2015) (41)	UK, EE. UU., Polonia, Australia	3429	467	29	430	2307	12 (0,40)	0	0	1 (0,34)	11 (0,35)	1 (0,03)
	Golmard y cols. (2017) (44)	Francia	2649	2063	538	32	0	7 (0,30)	4 (0,2)	2 (0,40)	1 (3,10)	-	-
	Sánchez y cols. (2018) (33)	España	77	0	61	16	0	1 (1,30)	-	0	1 (6,25)	-	-
	Total		10.561	4456	2548	549	3041	40 (0,4)	4 (0,09)	17 (0,7)	3 (0,54)	16 (0,52)	2 (0,05)

CM: cáncer de mama; CM y CO: cáncer de mama y ovario; uCO: cáncer de ovario sin historia familiar previa. Ente paréntesis: rendimiento diagnóstico del análisis del gen RAD51D(%).

Ante estos resultados, el mismo grupo realizó un genotipado de esta variante en 2200 pacientes con CM y en 553 con CO, identificando esta variante en 5 pacientes de 707 con historia de CO (0,7 %) y en 2 pacientes de 2105 con historia exclusivamente de CM (0,09 %). El haplotipo de 10 individuos de 4 de las familias con la mutación demostró que las familias tenían un ancestro común, por lo que la alta prevalencia detectada por Pelttari fue debida a un efecto fundador en su población (Finlandia) (39).

En población española, Gutiérrez-Enríquez y cols. detectaron 4 variantes patogénicas en una cohorte de 842 familias, y todas las variantes se hallaron en el grupo de las 491 familias con CM y CO (0,81 %) (40).

Globalmente, se han genotipado 2548 familias con este fenotipo y se ha detectado en ellas un total de 17 variantes patogénicas, obteniendo una prevalencia mutacional del 0,7 %.

RAD51D en familias con CO

Las familias con fenotipo exclusivamente de CO no están muy representadas en los estudios realizados sobre RAD51D. En total existen 549 de estas familias genotipadas.

Es en el estudio de Song y cols. de 2015 donde se analizaron 294 familias y se detectó una única variante patogénica (0,34 %) (41).

Thompson y cols. y Gutiérrez-Enríquez y cols. incluyeron 16 y 51 familias con este fenotipo respectivamente. En ninguno de los estudios se detectaron variantes patogénicas (40,43).

Golmard y cols. publicaron un trabajo donde detectaron una variante patogénica en 32 familias con CO exclusivamente (3,1 %) (44).

Sánchez-Bermúdez y cols. detectaron una variante patogénica en 16 familias estudiadas con este fenotipo, obteniendo un rendimiento del 6,25 %. Este porcentaje se prevee sobreestimado debido a que el número de familias con este fenotipo no es muy alto (33).

Globalmente, se han descrito 3 mutaciones en un total de 549 familias (0,54 %). Se deben seguir analizando las familias con el fin de obtener una mayor evidencia sobre la prevalencia de RAD51D.

RAD51D en CO sin historia familiar

El primer trabajo que estudió la prevalencia mutacional de RAD51D en casos de CO no seleccionados por la historia familiar fue Wickramanyake y cols. con la selección de 360 mujeres con CO, de trompas o peritoneal primario y 449 mujeres y 10 hombres de 226 familias con al menos 4 CM. Detectaron 3 variantes patogénicas entre el grupo de las 360 mujeres aparentemente sin historia familiar. De entre las tres portadoras de variantes patogénicas, una de ellas resultó presentar historia familiar de CM y CO (42).

Thompson y cols. también seleccionaron 245 casos de CO sin historia familiar entre los cuales hallaron 2 variantes patogénicas (0,8 %) (43).

En el estudio español, de Gutiérrez-Enríquez y cols. también incluyeron 129 casos sin historia familiar, pero en este caso no se detectó ninguna variante patogénica (40).

El mayor estudio de casos sin historia familiar fue el realizado por Song y cols. en 2015. En él se incluyeron 3429 casos, 2307 sin historia familiar, entre los cuales se detectaron 11 variantes patogénicas de *RAD51D* (0,35 %) (41).

En total se han estudiado 3041 casos de CO sin antecedentes familiares con una tasa mutacional de 0,52 %.

RAD51D en familias con CM

Existen varios estudios sobre familias con fenotipo de CM en los que no se han detectado variantes patogénicas. En el estudio realizado en población española en 2014, Gutiérrez-Enríquez y cols. no encontraron ninguna variante patogénica en las 171 familias con fenotipo de CM exclusivamente (40).

En las 737 familias con este fenotipo seleccionadas por Loveday y cols., las 741 por Thompson y cols. y las 226 por Wickramanyake y cols. no se detectó ninguna variante patogénica (38,42,43).

Golmard y cols. publicaron un trabajo donde detectaron 4 variantes patogénicas en 2063 familias con CM exclusivamente (0,2 %). Estos autores sostienen que la implicación de *RAD51D* con el CM debe ser considerada (44).

La genética como estrategia de tratamiento

Como se ha comentado anteriormente, muchos de los genes relacionados con la susceptibilidad genética al CM y CO están involucrados en la reparación de la doble cadena de ADN. Los agentes quimioterápicos análogos de los platinos, como el cisplatino o el carboplatino inducen entrecruzamientos entre las purinas del ADN, es decir, ICLs y DSB, lo que produce una toxicidad celular y requiere mecanismos de reparación como RH. Múltiples estudios sugieren que, efectivamente, células con defectos en la RH serían más sensibles a la acción de estos agentes. El hecho de que los defectos en la reparación del ADN concedieran a la célula una vulnerabilidad específica fue explotado hacia el concepto de letalidad sintética, que consiste en adicionar a una mutación génica, la inhibición de otro mecanismo celular de reparación para producir la muerte celular. Esta interacción letal fue descrita en células *BRCA1* o *BRCA2* mutadas a las que se les inducía una pérdida de la enzima *Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP-1)* (45). Los DSBs no pueden ser reparados mediante RH en células deficientes de *BRCA1/2*, con el resultado de una citotoxicidad (Fig. 3). Este hallazgo supuso un punto de partida para el desarrollo de fármacos inhibidores de la *PARP-1* (*iPARP*) como Olaparib®. En varios estudios con diferentes esquemas terapéuticos con Olaparib® sobre casos con CM *BRCA1* mutados, se observa una mayor respuesta al cisplatino (46) y un mayor intervalo libre de progresión (47). Igualmente, la respuesta de los casos con CO a las líneas terapéuticas con cisplatino estuvieron influenciadas por las mutaciones en *BRCA1/2*

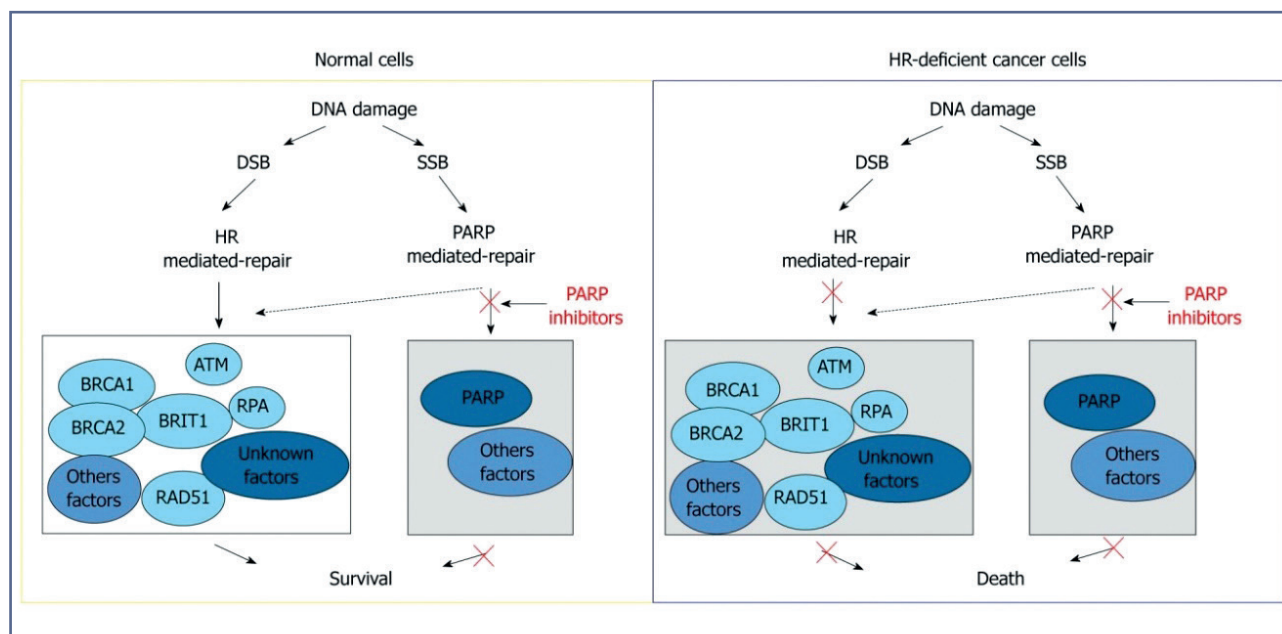


Figura 3 – Mecanismo de interacción entre la ruta de reparación mediada por la enzima Poly (ADP-ribose) polymerase (*PARP-1*) y la recombinación homóloga (DSB: daños en la doble hebra de ADN; SSB: daño en una sola hebra de ADN; HR: recombinación homóloga; RPA: proteína A de la replicación; BRCA: breast cancer susceptibility protein; PARP: Poly (ADP-ribose) polymerase). Tomado de Peng y cols., 2011 (54).

y otros genes de la RH (48-50). Un ensayo clínico en fase 2 mostró que el 24 % de los CO de alto grado o los cánceres de mama tripe negativo sin mutaciones en *BRCA* también respondían a tratamiento con Olaparib® (51,53). Lo que condujo a la hipótesis de que defectos en otras proteínas de RH también podrían conceder una mayor sensibilidad a los inhibidores de PARP-1. *In vitro*, se ha demostrado que la expresión de RAD51C fue menor en las células con mayor sensibilidad a Olaparib® e incluso una mayor toxicidad de estas células en los tratamientos que inducen daño en el ADN (52), aunque el papel de la deficiencia de RAD51C todavía no ha sido demostrado. Es por ello, que es necesario conocer el estado mutacional de estos genes para poder implementar estas terapias combinadas adecuadamente (53).

DISCUSIÓN

RAD51C y RAD51D, junto a *BRCA1* y *BRCA2*, son genes que realizan funciones en el mismo mecanismo de respuesta al daño en el ADN. Las mutaciones en *RAD51C* y *RAD51D* son raras y depende de la población a estudio, pero para portadores de variantes patogénicas, es clínicamente importante conocer el estado mutacional de estos genes, ya que puede proporcionar información muy valiosa sobre la estimación de riesgo de ese individuo o sus familiares, sobre la metodología terapéutica a seguir ante cada caso y sobre la posible efectividad de tratamientos.

Para realizar un diagnóstico genético preciso es fundamental diseñar una estrategia de selección de individuos a fin de obtener un rendimiento diagnóstico lo más alto posible. Tras el análisis de múltiples estudios internacionales se observa como la asociación de *RAD51C* y *RAD51D* con el CM no está del todo definida, aunque sí parecen estar influenciados los casos de CM con historia familiar de CO. La mayor prevalencia mutacional de *RAD51C* en estas familias fue reportada por Meindl y cols., con un 1,3 %, siendo la media de edad media de diagnóstico de CM de 53 (33-78) años y la de CO de 60 (50-81) años (17). Para *RAD51D* la mayor tasa de variantes patogénicas en estas familias fue de 0,88 % reportada por Loveday y cols. (38).

Entre los casos de CO la asociación se muestra clara, incluso en los CO sin antecedentes familiares. Es este estudio se han recogido 666 familias con fenotipo de CO exclusivamente estudiadas para *RAD51C* detectándose 8 variantes patogénicas en total, lo que significa una prevalencia de 1,2 %. Sin embargo, en los estudios sobre población española, no se identificó ninguna variante patogénica en las 16 familias estudiadas por Sánchez-Bermúdez y cols. con dicho fenotipo, ni en las 17 estudiadas por Blanco y cols. En población española, se detectó una variante patogénica de *RAD51D* en 16 familias con CO estudiadas por Sánchez-Bermúdez y cols. Debemos de tener en cuenta que una de las mayores limitaciones de este análisis es el escaso número

de familias recogidas en algunos grupos de estudio, por lo que se hace necesario recurrir a estudios multicéntricos con grandes poblaciones para lograr definir el riesgo que estos genes confieren.

En un reciente metaanálisis en el que se recopilaron 23.802 casos de CO se obtuvo una prevalencia mutacional de *RAD51C* de un 0,63 %, y en población control de un 0,11 %, se calculó un OR acumulado de 5,59 (95 % IC = 4,42-7,07; $p < 0,0001$). En cuanto a *RAD51D* se compararon 22.787 casos con un prevalencia mutacional de 0,41 % frente al 0,06 % en controles, calculando un OR acumulado de 6,94 (95 IC: 5,10-9,44; $p < 0,001$) (56). Es difícil la comparación de estos datos con los valores expuestos en el presente trabajo, ya que en este gran estudio no se proporcionan datos sobre la historia familiar o personal de cáncer. Como reconocen los autores, es interesante conocer cómo se expresa la enfermedad, la edad a la que aparecen las distintas tumoraciones, e incluso, tener en cuenta el subtipo histológico a la hora de clasificar a los pacientes. Esto es especialmente importante en el CO de alto grado seroso, al cual se asocian principalmente los defectos el proceso de RH y donde se prevé una mayor prevalencia mutacional de estos genes. Por lo tanto, de estas limitaciones surge la necesidad de realizar futuros estudios donde se asocien casos y controles y donde se tenga en cuenta además del fenotipo familiar el subtipo histológico tumoral.

CONCLUSIÓN

Tras la revisión de datos realizada en este trabajo y teniendo en cuenta las evidencias anteriores, podemos concluir que *RAD51C* y *RAD51D* se asocian al SCMOH, sobre todo en familias en las que coexisten el CM y el CO. La prevalencia mutacional de estos genes varía en función del fenotipo familiar, por lo que es fundamental una correcta selección de pacientes para un asesoramiento genético adecuado. Aunque son necesarios ensayos clínicos, *RAD51C* y *RAD51D* pueden servir como nuevos biomarcadores para la identificación de tumores sensibles a Olaparib®, permitiendo así una selección de los pacientes que más se beneficiarían del tratamiento con estas nuevas terapias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ford D, Easton DF, Stratton M, Narod S, Goldgar D, Devilee P, et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the *BRCA1* and *BRCA2* genes in breast cancer families. The Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1998;62(3):676-89.
2. Antoniou AC, Pharoah PDP, McMullan G, Day NE, Stratton MR, Peto J, et al. A comprehensive model for familial breast cancer incorporating *BRCA1*, *BRCA2* and other genes. *Br J Cancer* 2002;86(1):76-83. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600008
3. Antoniou A, Pharoah PDP, Narod S, Risch HA, Eyfjord JE, Hopper JL, et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with *BRCA1* or *BRCA2* mutations detected in case Series unselected for

- family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet.* 2003 May;72(5):1117-30. DOI: 10.1086/375033
4. Haber JE. DNA recombination: the replication connection. *Trends Biochem Sci* 1999;24(7):271-5. DOI: 10.1016/S0968-0004(99)01413-9
 5. McEachern MJ, Haber JE. Break-induced replication and recombinational telomere elongation in yeast. *Annu Rev Biochem* 2006;75:111-35. DOI: 10.1146/annurev.biochem.74.082803.133234
 6. Hoeijmakers JHJ. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001;411(6835):366-74. DOI: 10.1038/35077232
 7. Walsh CS. Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy. *Gynecol Oncol* 2015;137(2):343-50. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.02.017
 8. Miller KA, Sawicka D, Barsky D, Albala JS. Domain mapping of the Rad51 paralog protein complexes. *Nucleic Acids Res* 2004;32(1):169-78. DOI: 10.1093/nar/gkg925
 9. Badie S, Liao C, Thanasoula M, Barber P, Hill MA, Tarsounas M. RAD51C facilitates checkpoint signaling by promoting CHK2 phosphorylation. *J Cell Biol* 2009;185(4):587-600. DOI: 10.1083/jcb.200811079
 10. Chun J, Buechelmaier ES, Powell SN. Rad51 paralog complexes BCDX2 and CX3 act at different stages in the BRCA1-BRCA2-dependent homologous recombination pathway. *Mol Cell Biol* 2013;33(2):387-95. DOI: 10.1128/MCB.00465-12
 11. Bennett BT, Knight KL. Cellular localization of human Rad51C and regulation of ubiquitin-mediated proteolysis of Rad51. *J Cell Biochem* 2005;96(6):1095-109. DOI: 10.1002/jcb.20640
 12. Liu Y, Tarsounas M, O'regan P, West SC. Role of RAD51C and XRCC3 in genetic recombination and DNA repair. *J Biol Chem* 2007;282(3):1973-9. DOI: 10.1074/jbc.M609066200
 13. Vaz F, Hanenberg H, Schuster B, Barker K, Wiek C, Erven V, et al. Mutation of the RAD51C gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nat Genet* 2010;42(5):406-9. DOI: 10.1038/ng.570
 14. Somyajit K, Subramanya S, Nagaraju G. RAD51C: a novel cancer susceptibility gene is linked to Fanconi anemia and breast cancer. *Carcinogenesis* 2010;31(12):2031-8. DOI: 10.1093/carcin/bgq210
 15. Braybrooke JP, Li J-L, Wu L, Caple F, Benson FE, Hickson ID. Functional Interaction between the Bloom's Syndrome Helicase and the RAD51 Paralog, RAD51L3 (RAD51D). *J Biol Chem* 2003;278(48):48357-66. DOI: 10.1074/jbc.M308838200
 16. Tarsounas M, Muñoz P, Claas A, Smiraldi PG, Pittman DL, Blasco MA, et al. Telomere Maintenance Requires the RAD51D Recombination/Repair Protein. *Cell* 2004;117(3):337-47. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00337-x
 17. Meindl A, Hellebrand H, Wiek C, Erven V, Wappenschmidt B, Niederacher D, et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2010;42(5):410-4. DOI: 10.1038/ng.569
 18. Pelttari LM, Heikkinen T, Thompson D, Kallioniemi A, Schleutker J, Holli K, et al. RAD51C is a susceptibility gene for ovarian cancer. *Hum Mol Genet* 2011;20(16):3278-88. DOI: 10.1093/hmg/ddr229
 19. Thompson ER, Boyle SE, Johnson J, Ryland GL, Sawyer S, Choong DYH, et al. Analysis of RAD51C germline mutations in high-risk breast and ovarian cancer families and ovarian cancer patients. *Hum Mutat* 2012;33(1):95-9. DOI: 10.1002/humu.21625
 20. Loveday C, Turnbull C, Ruark E, Xicola RMM, Ramsay E, Hughes D, et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet* 2012;44(5):475-6; author reply 476. DOI: 10.1038/ng.2224
 21. Zheng Y, Zhang J, Hope K, Niu Q, Huo D, Olopade OI. Screening RAD51C nucleotide alterations in patients with a family history of breast and ovarian cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;124(3):857-61. DOI: 10.1007/s10549-010-1095-5
 22. Akbari MR, Tonin P, Foulkes WD, Ghadirian P, Tischkowitz M, Narod SA. RAD51C germline mutations in breast and ovarian cancer patients. *Breast Cancer Res BCR* 2010;12(4):404. DOI: 10.1186/bcr2619
 23. Pang Z, Yao L, Zhang J, Ouyang T, Li J, Wang T, et al. RAD51C germline mutations in Chinese women with familial breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2011;129(3):1019-20. DOI: 10.1007/s10549-011-1574-3
 24. Clague J, Wilhoite G, Adamson A, Bailis A, Weitzel JN, Neuhausen SL. RAD51C germline mutations in breast and ovarian cancer cases from high-risk families. *PLoS One* 2011;6(9):e25632. DOI: 10.1371/journal.pone.0025632
 25. Lu W, Wang X, Lin H, Lindor NM, Couch FJ. Mutation screening of RAD51C in high-risk breast and ovarian cancer families. *Fam Cancer* 2012;11(3):381-5. DOI: 10.1007/s10689-012-9523-9
 26. Romero A, Pérez-Segura P, Tosar A, García-Saenz JA, Díaz-Rubio E, Caldés T, et al. A HRM-based screening method detects RAD51C germ-line deleterious mutations in Spanish breast and ovarian cancer families. *Breast Cancer Res Treat* 2011;129(3):939-46. DOI: 10.1007/s10549-011-1543-x
 27. Osorio A, Endt D, Fernández F, Eirich K, de la Hoya M, Schmutzler R, et al. Predominance of pathogenic missense variants in the RAD51C gene occurring in breast and ovarian cancer families. *Hum Mol Genet* 2012;21(13):2889-98. DOI: 10.1093/hmg/dds115
 28. Blanco A, Gutiérrez-Enríquez S, Santamariña M, Montalbán G, Bonache S, Balmaña J, et al. RAD51C germline mutations found in Spanish site-specific breast cancer and breast-ovarian cancer families. *Breast Cancer Res Treat* 2014;147(1):133-43. DOI: 10.1007/s10549-014-3078-4
 29. Vuorela M, Pylkäs K, Hartikainen JM, Sundfeldt K, Lindblom A, von Wachenfeldt Wäppling A, et al. Further evidence for the contribution of the RAD51C gene in hereditary breast and ovarian cancer susceptibility. *Breast Cancer Res Treat* 2011;130(3):1003-10. DOI: 10.1007/s10549-011-1677-x
 30. Coulet F, Fajac A, Colas C, Eyries M, Dion-Minière A, Rouzier R, et al. Germline RAD51C mutations in ovarian cancer susceptibility. *Clin Genet* 2013;83(4):332-6. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2012.01917.x
 31. Cunningham JM, Cicek MS, Larson NB, Davila J, Wang C, Larson MC, et al. Clinical characteristics of ovarian cancer classified by BRCA1, BRCA2, and RAD51C status. *Sci Rep* 2014;4:4026. DOI: 10.1038/srep04026
 32. Loveday C, Turnbull C, Ruark E, Xicola RMM, Ramsay E, Hughes D, et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet* 2012;44(5):475-6; author reply 476. DOI: 10.1038/ng.2224
 33. Sánchez-Bermúdez AI, Sarabia-Meseguer MD, García-Aliaga Á, Marín-Vera M, Macías-Cerrolaza JA, Henaréjos PS, et al. Mutational analysis of RAD51C and RAD51D genes in hereditary breast and ovarian cancer families from Murcia (southeastern Spain). *Eur J Med Genet* 2018;61(6):355-61. DOI: 10.1016/j.ejmg.2018.01.015
 34. Pennington KP, Walsh T, Harrell MI, Lee MK, Pennil CC, Rendi MH, et al. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2014;20(3):764-75. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2287
 35. Schnurbein G, Hauke J, Wappenschmidt B, Weber-Lassalle N, Engert S, Hellebrand H, et al. RAD51C deletion screening identifies a recurrent gross deletion in breast cancer and ovarian cancer families. *Breast Cancer Res BCR* 2013;15(6):R120. DOI: 10.1186/bcr3589
 36. Jønson L, Ahlborn LB, Steffensen AY, Djursby M, Ejlersen B, Timshel S, et al. Identification of six pathogenic RAD51C mutations via mutational screening of 1228 Danish individuals with increased risk of hereditary breast and/or ovarian cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2016;155(2):215-22. DOI: 10.1007/s10549-015-3674-y
 37. Osher DJ, De Leeneer K, Michils G, Hamel N, Tomiak E, Poppe B, et al. Mutation analysis of RAD51D in non-BRCA1/2 ovarian and breast cancer families. *Br J Cancer* 2012;106(8):1460-3. DOI: 10.1038/bjc.2012.87

38. Loveday C, Turnbull C, Ramsay E, Hughes D, Ruark E, Frankum JR, et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet* 2011;43(9):879-82. DOI: 10.1038/ng.893
39. Pelttari LM, Kiiski J, Nurminen R, Kallioniemi A, Schleutker J, Gylfe A, et al. A Finnish founder mutation in RAD51D: analysis in breast, ovarian, prostate, and colorectal cancer. *J Med Genet* 2012;49(7):429-32. DOI: 10.1136/jmedgenet-2012-100852
40. Gutiérrez-Enríquez S, Bonache S, Ruiz de Garibay G, Osorio A, Santamariña M, Ramón y Cajal T, et al. About 1 % of the breast and ovarian Spanish families testing negative for BRCA1 and BRCA2 are carriers of RAD51D pathogenic variants. *Int J Cancer J Int Cancer* 2014; 134(9):2088-97. DOI: 10.1002/ijc.28540
41. Song H, Dicks E, Ramus SJ, Tyrer JP, Intermaggio MP, Hayward J, et al. Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2015;33(26):2901-7. DOI: 10.1200/JCO.2015.61.2408
42. Wickramanayake A, Wickramanyake A, Bernier G, Pennil C, Casadei S, Agnew KJ, et al. Loss of function germline mutations in RAD51D in women with ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2012;127(3):552-5. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.09.009
43. Thompson ER, Rowley SM, Sawyer S, kConfab, Eccles DM, Trainer AH, et al. Analysis of RAD51D in ovarian cancer patients and families with a history of ovarian or breast cancer. *PLoS One* 2013;8(1):e54772. DOI: 10.1371/journal.pone.0054772
44. Golmard L, Castéra L, Krieger S, Moncoutier V, Abidallah K, Tenreiro H, et al. Contribution of germline deleterious variants in the RAD51 paralogs to breast and ovarian cancers. *Eur J Hum Genet EJHG* 2017;25(12):1345-53. DOI: 10.1038/s41431-017-0021-2
45. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, Parker KM, Flower D, Lopez E, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature* 2005;434(7035):913-7. DOI: 10.1038/nature03443
46. Byrski T, Huzarski T, Dent R, Gronwald J, Zuziak D, Cybulski C, et al. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2009;115(2):359-63. DOI: 10.1007/s10549-008-0128-9
47. Byrski T, Gronwald J, Huzarski T, Grzybowska E, Budryk M, Stawicka M, et al. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2010;28(3):375-9. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.7019
48. Lorusso D, Tripodi E, Maltese G, Lepori S, Sabatucci I, Bogani G, et al. Spotlight on olaparib in the treatment of BRCA-mutated ovarian cancer: design, development and place in therapy. *Drug Des Devel Ther* 2018;12:1501-9. DOI: 10.2147/DDDT.S124447
49. Taniguchi T, Tischkowitz M, Ameziane N, Hodgson SV, Mathew CG, Joenje H, et al. Disruption of the Fanconi anemia-BRCA pathway in cisplatin-sensitive ovarian tumors. *Nat Med* 2003;9(5):568-74. DOI: 10.1038/nm852
50. Murai J. Targeting DNA repair and replication stress in the treatment of ovarian cancer. *Int J Clin Oncol* 2017;22(4):619-28. DOI: 10.1007/s10147-017-1145-7
51. Tutt A, Robson M, Garber JE, Domchek SM, Audeh MW, Weitzel JN, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet Lond Engl* 2010;376(9737):235-44. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60892-6
52. Min A, Im S-A, Yoon Y-K, Song S-H, Nam H-J, Hur H-S, et al. RAD51C-deficient cancer cells are highly sensitive to the PARP inhibitor olaparib. *Mol Cancer Ther* 2013;12(6):865-77. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0950
53. Kondrashova O, Nguyen M, Shield-Artin K, Tinker AV, Teng NNH, Harrell MI, et al. Secondary Somatic Mutations Restoring RAD51C and RAD51D Associated with Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma. *Cancer Discov* 2017;7(9):984-98. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0419
54. Peng G. Exploiting the homologous recombination DNA repair network for targeted cancer therapy. *World J Clin Oncol* 2011;2(2):73. DOI: 10.5306/wjco.v2.i2.73
55. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(8):852-61. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70228-1
56. Suszynska M, Ratajska M, Kozłowski P. BRIP1, RAD51C, and RAD51D mutations are associated with high susceptibility to ovarian cancer: mutation prevalence and precise risk estimates based on a pooled analysis of ~30,000 cases. *J Ovarian Res* 2020;13(1):50. DOI: 10.1186/s13048-020-00654-3
57. Eoh KJ, Kim JE, Park HS, Lee S-T, Park JS, Han JW, et al. Detection of Germline Mutations in Patients with Epithelial Ovarian Cancer Using Multi-gene Panels: Beyond BRCA1/2. *Cancer Res Treat Off J Korean Cancer Assoc* 2018;50(3):917-25. DOI: 10.4143/crt.2017.220
58. Wong MW, Nordfors C, Mossman D, Pecenetelovska G, Avery-Kiejda KA, Talseth-Palmer B, et al. BRIP1, PALB2, and RAD51C mutation analysis reveals their relative importance as genetic susceptibility factors for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2011;127(3):853-9. DOI: 10.1007/s10549-011-1443-0
59. De Leeneer K, Van Bockstal M, De Brouwer S, Swietek N, Schiettecatte P, Sabbaghian N, et al. Evaluation of RAD51C as cancer susceptibility gene in a large breast-ovarian cancer patient population referred for genetic testing. *Breast Cancer Res Treat* 2012;133(1):393-8. DOI: 10.1007/s10549-012-1998-4
60. Kushnir A, Laitman Y, Shimon SP, Berger R, Friedman E. Germline mutations in RAD51C in Jewish high cancer risk families. *Breast Cancer Res Treat* 2012;136(3):869-74. DOI: 10.1007/s10549-012-2317-9



Revisión

Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, otra enfermedad emergente

Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, another emerging disease

Ángel San Miguel¹ y José M.^a Eiros Bouza²

Servicios de ¹Análisis Clínicos y ²Microbiología. Hospital Universitario Río Hortega. Facultad de Medicina. Valladolid

Recibido: 11/09/2020
Aceptado: 16/11/2020

Correspondencia: Ángel San Miguel Hernández. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega. C/ Dulzaina, 2. 47012. Valladolid
e-mail: asanmi@saludcastillayleon.es

Palabras clave:

Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo. Garrapatas. Mortalidad.

Keywords:

Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Ticks. Mortality.

RESUMEN

Recientemente, apareció un nuevo caso mortal de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo en Salamanca, un varón de 69 años y que había presentado una sintomatología inespecífica. Su estado se fue agravando y se descubrió una lesión negruzca en una pierna, justo donde en días previos había sufrido una picadura de garrapata.

La fiebre hemorrágica de Crimea-Congo es una enfermedad febril leve que puede progresar a un cuadro hemorrágico grave y a menudo mortal. Se la considera una enfermedad emergente en países de Europa oriental y una de las enfermedades transmitidas por garrapatas con mayor extensión a nivel mundial.

ABSTRACT

Recently, a new fatal case of Crimean-Congo hemorrhagic fever appeared in Salamanca, a 69-year-old man who had presented nonspecific symptoms.

His condition worsened and a blackish lesion was discovered on one leg, just where he had suffered a tick bite in previous days. Crimean-Congo hemorrhagic fever is a mild febrile illness that can progress to severe and often fatal bleeding. It is considered an emerging disease in eastern European countries and one of the most widespread tick-borne diseases worldwide.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00044

San Miguel Á, Eiros Bouza JM. Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, otra enfermedad emergente. Rev Med Lab 2020;1(3):120-126

INTRODUCCIÓN

Los acontecimientos relativos a la aparición de un caso de virus de la fiebre hemorrágica Crimea-Congo (FHCC) en España, que resultó fatal y la infección de una profesional sanitaria que le atendió, fue comunicado en 2016. Recientemente, ha aparecido un nuevo caso mortal de FHCC en Salamanca; un varón de 69 años y que había presentado una sintomatología inespecífica, por la que se encontraba en tratamiento. Su estado se fue agravando y se le descubrió una lesión negruzca en una pierna, justo donde en días previos había sufrido una picadura de garrapata. El paciente murió días antes de conocerse el diagnóstico.

La emergencia de un virus, que es habitual de otras latitudes causando infecciones en seres humanos, es una realidad esperable. El término de enfermedades virales emergentes engloba tanto las de nueva aparición en la población, como aquellas previamente conocidas en un momento determinado y que presentan un aumento exponencial en su incidencia en forma de epidemias o brotes o modifican su distribución geográfica.

Los mecanismos que facilitan la expansión de estos virus se pueden clasificar en tres grupos. Primeramente, mediante la aparición de un virus desconocido, gracias a la evolución de una nueva variante. En segundo término, es que puede acontecer un salto interespecie, introduciéndose un nuevo huésped en el ciclo vital del virus. En último lugar, se puede producir la expansión geográfica de un virus tradicionalmente limitado a un nicho ecológico, en el que originariamente surgió.

Esos agentes comparten una serie de características que establecen el modelo de virus emergente como es, el poseer el genoma ARN, ser zoonóticos, vehiculados por vectores y trasmisibles al ser humano. De manera concomitante, el virus puede adquirir capacidad para reconocer receptores conservados en varias especies al tiempo que puede implicarse en ecosistemas que favorezcan la expansión del virus (1). Un aspecto molecular relevante es que los propios virus pueden llegar a adaptarse al medio, más aún cuando su genoma es ARN, en cuya replicación las ARN polimerasas asumen una alta tasa de errores que pueden facilitar cambios que conlleven la unión a receptores o que condicionen una respuesta inmune diferente a la generada frente a las cepas predecesoras (2).

Existen diversos factores que contribuyen a facilitar la emergencia de las infecciones víricas que conceptualmente son inherentes a la población, provocados por conflictos bélicos que desplazan a millones de personas. La OMS considera que en año 2025 el 65 % de la población mundial vivirá en las ciudades. También el cambio climático global afecta fuertemente, ya que en ocasiones provoca la migración de especies animales, potenciales vectores, en busca de un ambiente favorable en el que también influye la disponibilidad de agua. Con el calentamiento global se favorece el asentamiento en zonas donde anteriormente no habitaba el vector. Un factor clave que favorece la expansión es la

pobreza. Las desigualdades sociales favorecen el hacinamiento y unas condiciones sanitarias deficientes en los grupos poblacionales más desfavorecidos, lo que aumenta probablemente la probabilidad de transmisión entre humanos y entre especies (3).

A lo largo de la historia, los viajes han conllevado en muchas ocasiones la expansión de enfermedades infecciosas como la viruela o aquellas asociadas a roedores.

Aunque actualmente existen grandes avances en las comunicaciones y alertas sanitarias, también existe un mayor flujo de viajeros por todo el mundo, lo que puede hacer que un vector o un individuo infectado pueda desplazarse muy lejos, introduciendo el virus en un nuevo hábitat (4).

La importancia de la FHCC en nuestro país se debe a que tiene un potencial riesgo de circulación del virus, debido a la situación geográfica que tenemos por la proximidad al continente africano y también por ser lugar de tránsito obligado de aves migratorias, la amplia presencia del vector implicado en la transmisión de esta enfermedad y las condiciones climáticas, similares a las zonas donde se ha evidenciado esta circulación.

La emergencia de la FHCC y su impacto en el sur y este de Europa se debe a los cambios climáticos y ecológicos y, además, a factores antropogénicos, como es el cambio en la utilización de la tierra, las prácticas agrícolas, la caza y el desplazamiento del ganado que parece tener un impacto en la población de garrapatas y sus huéspedes, ya que esto se asocia a un aumento en la población de liebres, que, junto con la gran maleza en el campo debido a la disminución de la actividad agrícola, se han relacionado con el incremento en la población de garrapatas y de los reservorios. Debido a esta amplia distribución del vector, a la gran cantidad de animales que pueden actuar como hospedadores y a la climatología favorable en los países mediterráneos es posible que continúe ampliándose en el futuro.

La infección por el virus FHCC es una enfermedad generalmente mortal. En general durante los primeros días de la enfermedad, lo más habitual es que no se produzca una respuesta de anticuerpos medibles, de modo que en esos casos el diagnóstico se realiza mediante la detección del virus o de su ARN en muestras de sangre o tejidos.

La manipulación de las muestras de los pacientes con sospecha de infección por el virus de la FHCC, entrañan un riesgo biológico extremo y por tanto deben manipularse con el máximo nivel de bioseguridad, excepto en el caso de que en las muestras se haya procedido a inactivar el virus por diferentes medios y así poder reducir este nivel de bioseguridad.

FIEBRE HEMORRÁGICA DE CRIMEA-CONGO

La FHCC es una antropozoonosis causada por un virus del género *Nairovirus*, perteneciente a la familia *Bunyavididae*. Se trata de una enfermedad vírica,

emergente en Europa occidental, que es transmitida mediante la picadura de una garrapata, principalmente *Hyalomma spp.* (5).

En la figura 1, aparece recogida la fotografía del virus FHCC (A) y su estructura (B).

El virus de la FHCC se transmite a las personas ya sea por la picadura de garrapatas o por contacto con la sangre o tejidos de animales. Puede haber transmisión entre seres humanos, en casos de contacto con sangre, secreciones, órganos u otros líquidos corporales de personas infectadas o por el contacto con fluidos o excreciones de pacientes sintomáticos o por sus fómites.

En la figura 2 aparece recogida la garrapata trasmisora de la FHCC.

La evolución de esta infección en el ser humano es característica y presenta cuatro fases diferentes: de incubación, prehemorrágica, hemorrágica y periodo de convalecencia. Pero estudios serológicos realizados en países endémicos indican que la infección en el ser humano puede cursar de forma asintomática, si bien es difícil establecer en qué porcentaje.

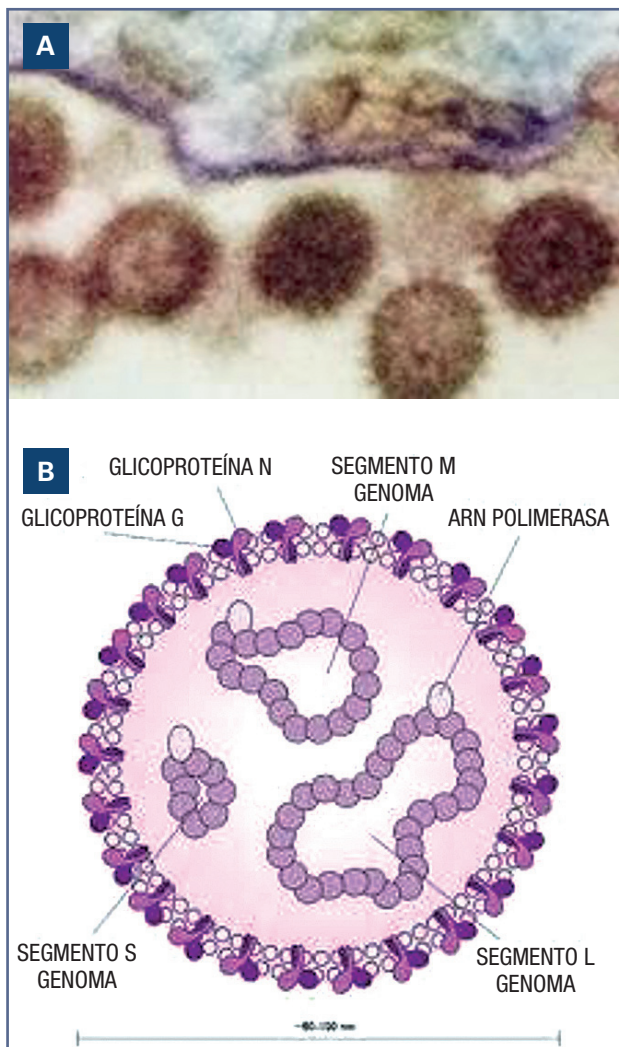


Figura 1 – Fotografía del virus FHCC (A) y su estructura (B) (tomadas del Centro de vigilancia Sanitaria Veterinaria (UCM)).



Figura 2 – Garrapata trasmisora de la FHCC.

La FHCC es endémica en África, los Balcanes, Oriente Medio y Asia, en los países situados por debajo de los 50° de latitud norte, que es el límite geográfico de la garrapata *Hyalomma spp.*, que constituye su vector principal.

En diferentes estudios (5-7) se concluye que las aves migratorias procedentes principalmente de África, pueden ser las portadoras de estas garrapatas a nuestro país. Esto, junto con los condicionantes del cambio climático en la distribución de los vectores de *Hyalomma marginatum* en Europa y especialmente en la Península Ibérica, hacen necesaria la realización de encuestas activas que deben llevarse a cabo de forma rutinaria en las áreas adecuadas para el establecimiento exitoso de estas garrapatas.

En España, desde 2010, se ha detectado circulación del virus de la FHCC en garrapatas capturadas en la provincia de Cáceres. En septiembre de 2016 se diagnosticó el primer caso humano, asociado al contacto con una garrapata en la provincia de Ávila y un segundo caso en un profesional sanitario al que se le atendió en la Comunidad de Madrid. En estudios posteriores se ha confirmado la presencia de virus de la FHCC en garrapatas capturadas sobre animales silvestres en municipios de siete comarcas estudiadas de las comunidades autónomas de Extremadura, Castilla La Mancha, Castilla y León y Madrid (5-7).

En la figura 3 aparece recogida la distribución de los casos por FHCC en el mundo.

Se recomienda reforzar la prevención de picaduras por garrapatas en las zonas de riesgo, difundir información sobre las medidas para evitar la transmisión de la enfermedad, y realizar vigilancia activa de la enfermedad en humanos con el fin de detectar de forma precoz posibles casos y limitar su propagación.

El virus se transmite a las personas ya sea por la picadura de garrapatas o por contacto con la sangre o tejidos de animales infectados durante la matanza, ya que está presente en ganado bovino salvaje y doméstico como ciervos, ovejas, cabras y liebres. Puede haber transmisión entre seres humanos en casos de contacto estrecho con sangre, secreciones, órganos u otros líquidos corporales de personas infectadas, por lo que la duración del periodo de incubación depende del modo de contagio del virus.

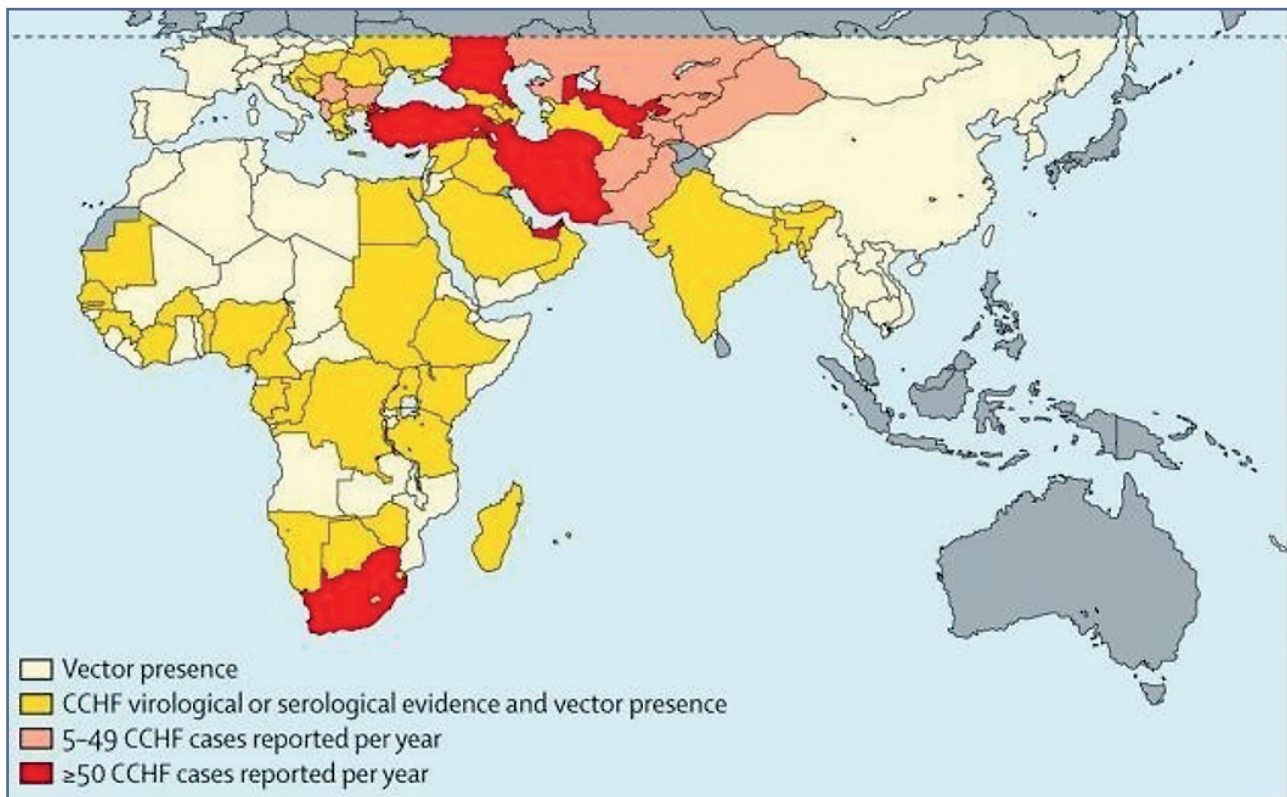


Figura 3 – Prevalencia de casos detectados de FHCC en el mundo (6).

Después de la picadura de garrapata, la fase de incubación es generalmente de uno a tres días, con un máximo de nueve días. El periodo de incubación tras el contacto con sangre o tejidos infectados es normalmente de cinco o seis días, con un máximo documentado de trece días.

Los síntomas comienzan de forma súbita, en forma de fiebre, mialgia (dolor muscular), mareo, dolor y rigidez de cuello, lumbago, cefalea, irritación de los ojos y fotofobia (hipersensibilidad a la luz). Puede haber náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y dolor de garganta al principio, seguidos de bruscos cambios de humor y confusión. Al cabo de dos a cuatro días, la agitación puede dar paso a somnolencia, depresión y debilidad, y puede aparecer dolor abdominal en el cuadrante superior derecho, con hepatomegalia detectable.

Otros signos clínicos posibles son taquicardia, adenopatías y erupción petequeal en las mucosas internas, como por ejemplo en la boca y en la piel. Las petequias pueden dar paso a erupciones más grandes llamadas equimosis, así como a otros fenómenos hemorrágicos.

También se encuentran signos de hepatitis, y los pacientes más graves pueden sufrir un rápido deterioro renal, o insuficiencia hepática o pulmonar a partir del quinto día.

La tasa de mortalidad asociada es de aproximadamente un 30 %, y la muerte sobreviene durante la segunda semana. Entre los pacientes que se recuperan, la mejoría comienza generalmente al noveno o décimo día tras la aparición de la enfermedad.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico principalmente se asienta en la sospecha clínica. En el caso de la FHCC, el desarrollo de fiebre en un paciente que haya podido ser picado por garrapatas y si, además, es de un país donde se encuentre presente el artrópodo vector, y en el que se tiene constancia que circula el virus, es recomendable realizarle análisis de sangre, que incluye un hemograma, pruebas de coagulación, pruebas de las enzimas hepáticas y pruebas específicas frente al virus FHCC.

Además de las manifestaciones hemorrágicas, en cuanto a las pruebas de laboratorio, en el hemograma el parámetro más característico alterado es el número de plaquetas y de las alteraciones de la coagulación, el alargamiento del tiempo de protrombina (TP).

En función de su resultado se orientarán las causas y se realizarán pruebas mucho más específicas que van desde la determinación de pruebas para la detección de anticuerpos a la realización de pruebas moleculares como la PCR o el cultivo.

En general, para el diagnóstico de la infección por el virus FHCC se utilizan técnicas similares a las que se utilizan en la detección de otras enfermedades víricas.

La infección por el virus de la FHCC puede diagnosticarse mediante diferentes pruebas específicas de laboratorio, que son:

- *Detección de los anticuerpos* frente al virus FHCC mediante ensayos por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).

- *Detección de antígenos del virus*, mediante la detección de las proteínas del virus que pueden detectarse en sangre o plasma de los pacientes infectados.
- *Detección del material genético del virus mediante la técnica de PCR*. Al tratarse de un virus ARN existe un paso previo para convertir este ARN en ADN que se denomina transcripción reversa (RT-PCR), y se estudia amplificando el material genético de forma exponencial ya que confiere a la técnica una elevadísima sensibilidad para detectar pequeñas cantidades del virus en la muestra. Al tratarse de una enfermedad grave, en general durante los primeros días se realiza esta prueba ya que no existe una respuesta de anticuerpos medible.
- *Aislamiento del virus y crecimiento en cultivos celulares*, pero tienen mayor riesgo porque requieren una mayor manipulación de virus.
- *Seroneutralización*. Consiste en el análisis de la presencia en una muestra de anticuerpos capaces de neutralizar al virus y que reducen el efecto citopático en cultivos celulares.

En el caso de la FHCC lo mejor sería, en cuanto a sensibilidad y especificidad, realizar una PCR en el inicio del comienzo de los síntomas, pero hay que decir que unas pruebas negativas no excluirían la infección por la FHCC y las manifestaciones clínicas deben ser prioritarias para prevención de las actuaciones de los profesionales sanitarios.

En cuanto al diagnóstico diferencial hay que decir que la FHCC es difícil de diferenciar de otras enfermedades infecciosas febriles, sobre todo al inicio de la enfermedad. Por lo que también hay que descartar la malaria, las infecciones por rickettsias, fiebre tifoidea, leptospirosis y meningococo.

Los análisis de las muestras de los pacientes entrañan un riesgo biológico extremo y solo deben llevarse a cabo en condiciones de máxima contención biológica. No obstante, si las muestras son inactivadas previamente, estas pueden ser manipuladas en un entorno de bioseguridad básico.

En la figura 4 se observa la evolución de la respuesta inmunitaria en función de las técnicas de diagnóstico de laboratorio empleadas.

El tratamiento general de sostén contra los síntomas es la principal opción; además también se utiliza la ribavirina.

En cuanto a la prevención y control, estas se centran en el control en animales y garrapatas y reducir el riesgo de infección humana.

Es difícil prevenir o controlar la infección en los animales y las garrapatas, debido a que tanto el ciclo garrapata-animal-garrapata, como la infección de los animales domésticos suelen pasar desapercibidos. Y las garrapatas que pueden actuar como vector son numerosas y están muy extendidas, de modo que combatir las con acaricidas (productos químicos que las matan), solo es una opción viable en las instalaciones ganaderas. No se dispone de vacunas para los animales.

En cuanto a la segunda, aunque se ha desarrollado una vacuna inactivada derivada de cerebro de ratón, utilizada a pequeña escala en Europa oriental, actualmente no hay ninguna vacuna segura y eficaz ampliamente disponible para su uso humano.

Ante la falta de una vacuna, la única manera de reducir la infección humana es la sensibilización sobre los factores de riesgo y la educación de la población acerca de las medidas que pueden adoptarse para reducir la exposición al virus.

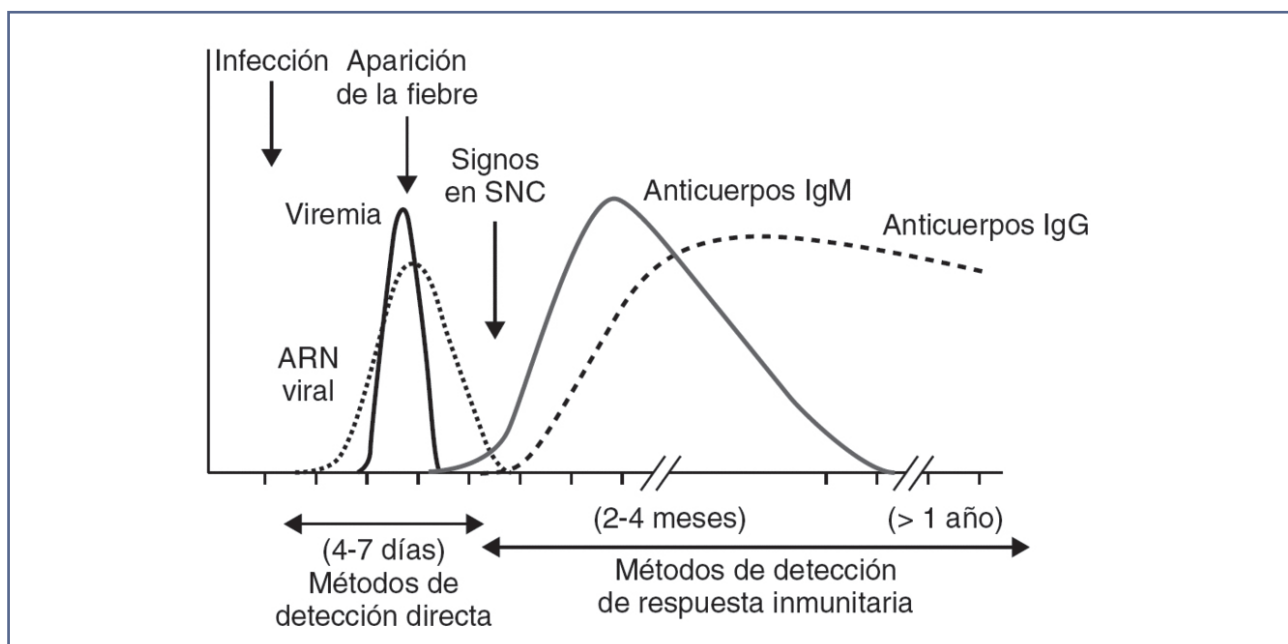


Figura 4 – Evolución de la respuesta inmunitaria producida por el virus de la FHCC (6).

Entre las medidas para reducir el riesgo de transmisión de garrapatas en humanos, tenemos (5,6):

- Hay que usar ropa protectora, como manga larga y pantalones largos.
- Hay que usar ropa de color claro para poder detectar fácilmente las garrapatas adheridas a ella.
- Hay que usar acaricidas autorizados como son los productos químicos que matan las garrapatas en la ropa.
- Hay que examinar regularmente la ropa y la piel en busca de garrapatas y, en caso de encontrar alguna, eliminarla.
- Aplicar repelentes autorizados en la piel y la ropa.
- Hay que procurar eliminar o controlar las infestaciones por garrapatas en los animales y en los establos y graneros.
- Y hay que evitar las zonas en que abundan las garrapatas, especialmente en determinadas estaciones.

Se han realizado diferentes investigaciones en España a lo largo de los años en las que se ha estudiado este virus en diferentes garrapatas de nuestro país y de Marruecos, así como el perfil serológico de los pacientes (8-11), además de otros muchos estudios en diferentes partes del mundo (12-38).

BIBLIOGRAFÍA

1. Sanchez-Seco Fariñas MP, Muñoz García de Paredes P, Eiros Bouza JM. Viriasis emergentes. En: Ausina Ruiz V, Moreno Gillén, directores. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2006. pp. 1007-13.
2. Rasmussen AL, Katxen MG. Genomic signatures of emerging viruses. A new era of systems epidemiology. *Cell Host Microbe* 2016;19:611-8.
3. De Wit, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2016;19:523-34.
4. Biek R, Leal LA. The landscape genetics of infectious disease emergence and spread. *Mol Ecol* 2010;19:3515-31.
5. Prevención de las Enfermedades transmitidas por garrapatas Castilla y León. Disponible en: <http://www.saludcastillayleon.es/ciudadanos/en/sanidadambiental/enfermedades-transmitidas-garrapatas> (recuperado el 29 de agosto de 2020).
6. Informe de situación y evaluación del riesgo de transmisión del virus de fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (FHCC) en España. 2019. Disponible en: https://www.msccbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/analisisituacion/doc/ER_FHCC.pdf (recuperado el 29 de agosto de 2020).
7. Zimmermann R, Hattendorf J, Blum J, Nüesch R, Hatz C. Risk perception of travelers to tropical and subtropical countries visiting a swiss travel health center. *J Travel Med* 2013;20:3-10.
8. Palomar AM, Portillo A, Mazuelas D, Roncero L, Arriaga J, Crespo A, et al. Molecular analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and Rickettsia in Hyalomma marginatum ticks removed from patients (Spain) and birds (Spain and Morocco), 2009-2015. *Ticks Tick Borne Dis* 2016;7: 983-7
9. Eiros Bouza JM. Función de los laboratorios centrales de referencia en el diagnóstico Serológico de las enfermedades infecciosas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;Monogr 4:78- 81.
10. Monsalve-Arteaga L, Alonso-Sardón M, Muñoz Bellido JL, Vicente Santiago MB, Vieira Lista M, López Abán J, et al. Seroprevalence of Crimean-Congo hemorrhagic fever in humans in the World Health Organization European region: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2020;14(3):e0008094. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008094
11. Monsalve Arteaga L, Muñoz Bellido JL, Vieira Lista MC, Vicente Santiago MB, Fernández Soto P, Bas I, et al. Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus-specific antibody detection in blood donors, Castile-León, Spain, summer 2017 and 2018. *Euro Surveill* 2020;25(10):1900507. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.10.1900507
12. Bartolini B, Gruber CEM, Koopmans M, Avšič T, Bino S, Christova I, et al. Laboratory management of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infections: perspectives from two European networks. *Euro Surveill* 2019;24(5):1800093. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.5.1800093
13. Blair PW, Kuhn JH, Pecor DB, Apanaskevich DA, Kortepeter MG, Cardile AP, et al. An Emerging Biothreat: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Southern and Western Asia. *Am J Trop Med Hyg* 2019;100(1):16-23. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0553
14. Mendoza EJ, Warner B, Safronetz D, Ranadheera C. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: Past, present and future insights for animal modelling and medical countermeasures. *Zoonoses Public Health* 2018;65(5):465-480.
15. Tiph T, Jane Burt F. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus: Advances in Vaccine Development. *Biores Open Access* 2020;9(1):137-50.
16. Hawman DW, Feldmann H. Recent advances in understanding Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Version 1. F1000Res. 2018; 7: F1000 Faculty Rev-1715. Published online 2018 Oct 29. DOI: 10.12688/f1000research.16189.1
17. Spengler JR, Bergeron E, Rollin PE. Seroepidemiological Studies of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Domestic and Wild Animals. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10(1):e0004210. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004210
18. Al-Abri SS, Abaidani IA, Fazlalipour M, Mostafavi E, Leblebicioglu H, Pshenichnaya N, et al. Current status of Crimean-Congo haemorrhagic fever in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region: issues, challenges, and future directions. *Int J Infect Dis* 2017;58:82-9.
19. Ergönül O, Keske S, Çeldir MG, Kara iA, Pshenichnaya N, Abuova G, et al. Systematic Review and Meta-analysis of Postexposure Prophylaxis for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus among Healthcare Workers. *Emerg Infect Dis* 2018;24(9):1642-8. DOI: 10.3201/eid2409.171709
20. Grech-Angelini S, Lancelot R, Ferraris O, Peyrefitte CH, Vachieri N, Pédarrieu A, et al. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Antibodies among Livestock on Corsica, France, 2014-2016. *Emerg Infect Dis* 2020;26(5):1041-4. DOI: 10.3201/eid2605.191465
21. Messina JP, Pigott DM, Golding N, Duda KA, Brownstein JS, Weiss DJ, et al. The global distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2015;109(8):503-13. DOI: 10.1093/trstmh/trv050
22. Dowall SD, Carroll MW, Hewson R. Development of vaccines against Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Vaccine* 2017;35(44):6015-23. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.05.031
23. Spengler JR, Bergeron E, Spiropoulou CF. Crimean-Congo hemorrhagic fever and expansion from endemic regions. *Curr Opin Virol*. *Curr Opin Virol* 2019;34:70-8. DOI: 10.1016/j.coviro.2018.12.002
24. Mazzola LT, Kelly-Cirino C. Diagnostic tests for Crimean-Congo haemorrhagic fever: a widespread tickborne disease. *BMJ Glob Health* 2019;4(Suppl 2):e001114. DOI: 10.1136/bmjgh-2018-001114
25. Negrodo A, Habela MA, Ramirez de Arellano E, Diez F, Lasala F, López P, et al. Survey of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Zoonotic Focus, Spain, 2011-2015. *Emerg Infect Dis* 2019;25(6):1177-84. DOI: 10.3201/eid2506.180877
26. Papa A, Mirazimi A, Köksal I, Estrada-Pena A, Feldmann H. Recent advances in research on Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J Clin Virol* 2015;64:137-43. DOI: 10.1016/j.jcv.2014.08.029

27. Garrison AR, Smith DR, Golden JW. Animal Models for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Human Disease. *Viruses* 2019;11(7):590.
28. Emmerich P, Mika A, von Possel R, Rackow A, Liu Y, Schmitz H, et al. Sensitive and specific detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV)—Specific IgM and IgG antibodies in human sera using recombinant CCHFV nucleoprotein as antigen in μ -capture and IgG immune complex (IC) ELISA tests. *PLoS Negl Trop Dis* 2018;12(3):e0006366. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006366
29. Gozdas HT. Evaluation of Crimean-Congo hemorrhagic fever suspected cases admitted to a secondary care hospital in Kastamonu, Turkey between 2014-2017. *Afr Health Sci* 2019; 19(1):1433-40. DOI: 10.4314/ahs.v19i1.16
30. Spengler JR, Estrada-Peña A, Garrison AR, Schmaljohn C, Spiropoulou CF, Bergeron E, et al. A chronological review of experimental infection studies of the role of wild animals and livestock in the maintenance and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral Res* 2017 Nov 1. Published in final edited form as: *Antiviral Res* 2016;135:31. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.09.013
31. Al-Abri SS, Hewson R, Al-Kindi H, Al-Abaidani I, Al-Jardani A, Al-Maani A, et al. Clinical and molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Oman. *PLoS Negl Trop Dis* 2019;13(4):e0007100. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007100
32. Papa A, Tsergouli K, Tsioka K, Mirazimi A. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever: Tick-Host- Virus Interactions. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:213. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00213
33. Keshkar-Jahromi M, Sajadi MM, Ansari H, Mardani M, Naieni KH. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. *Antiviral Res* 2013;100(1):20-8.
34. Spengler JR, Bente DA, Bray M, Burt F, Hewson R, Korukluoglu G, et al. Second International Conference on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Antiviral Res* 2018;150:137-47. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.11.019
35. Head JR, Bumburidi Y, Mirzabekova G, Rakhimov K, Dzhumankulov M, Salyer SJ, et al. Risk Factors for and Seroprevalence of Tick-borne Zoonotic Diseases among Livestock Owners, Kazakhstan. *Emerg Infect Dis* 2020;26(1):70-80. DOI: 10.3201/eid2601.190220
36. Koehler JW, Delp KL, Hall AT, Olschner SP, Kearney BJ, Garrison AR, et al. Sequence Optimized Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus. *Am J Trop Med Hyg* 2018;98(1):211-5. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0165
37. Goedhals D, Paweska JT, Burt FJ. Long-lived CD8⁺ T cell responses following Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11(12):e0006149. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006149
38. Shirin Barzanjeh Atri, Ranjbar F, Sahebihag Hh, Jafarabadi MA, Vahedi P, Balafar M, Keyhaniazar E. 150: using evidence-based education: a necessary approach in the prevention of emerging diseases Crimean Congo. *BMJ Open* 2017;7(Suppl 1). DOI: 10.1136/bmjopen-2016-015415.150



Caso Clínico

Doble heterocigosis hemoglobina S, C o D y beta-talasemia en una serie de tres casos

Double heterozygosity hemoglobin S, C or D and beta-thalassaemia in a series of three cases

María-Angustias Molina-Arrebola¹, Álvaro-Miguel Alba-Sosa¹, Josefina Ruiz-Cara², Sebastián José Guardia-Alés² y Cristóbal Avivar-Oyonarte³

¹Unidad de Hematología y Hemoterapia, y ²Unidad de Análisis Clínicos. Área Integrada de Biotecnología. Agencia Pública Sanitaria Hospital de Poniente. Almería. ³Área Integrada de Biotecnología. Agencia Pública Sanitaria Hospital de Poniente. Almería

Recibido: 15/09/2020
Aceptado: 14/12/2020

Correspondencia: María-Angustias Molina-Arrebola. Unidad de Hematología y Hemoterapia. Área Integrada de Biotecnología. Agencia Pública Sanitaria Hospital de Poniente. Ctra. Almerimar, s/n. 04700 El Ejido, Almería
e-mail: mariaangustias.molina@ephpo.es

CASOS CLÍNICOS

Se describe una serie de tres casos clínicos con similitud en el diagnóstico final.

La paciente 1 es una mujer de 26 años, de etnia árabe, natural de Mauritania, a la que se solicitó perfil analítico de primer trimestre de embarazo desde Atención Primaria; sin antecedentes conocidos. Se objetivó banda anómala de hemoglobina (Hb) en la determinación de HbA1c (sistema TOSOH G11HLC-723®G11) (Horiba Medical®).

El paciente 2 es un varón de 38 años, de etnia negra, natural de Mauritania, ingresado por un cuadro de tromboembolismo pulmonar subagudo bilateral no provocado con zonas de infarto pulmonar. Presentaba una leve esplenomegalia homogénea de 14 cm. Estudio de trombofilia sin hallazgos. Dado su origen étnico, se solicitó *screening* de hemoglobinopatía estructural, con el hallazgo de Hb anómala.

Y por último, el paciente 3 es un varón de 21 años, de etnia árabe, natural de Marruecos, al que se solicita perfil general desde Atención Primaria, incluyendo Hb glicosilada, con el hallazgo de Hb anómala.

Los datos hematimétricos y bioquímicos se detallan en la tabla I. Destaca en todos ellos anemia microcítica. En los pacientes 1 y 3 no existen datos de ferropenia, pero sí en el paciente 2, aunque con ferritina elevada, compatible con anemia de estado inflamatorio. Ninguno de los 3 pacientes presentaba datos de hemólisis, si bien existía discreta reticulocitosis en el paciente 2, aunque con valores de LDH y bilirrubina normales e incluso haptoglobina elevada en el contexto, igualmente, del estado inflamatorio.

Las gráficas obtenidas por HPLC (*high performance liquid chromatography* o cromatografía líquida de alta resolución) para el estudio de talasemia, se presentan en la figura 1, en la que destaca la presencia de una variante en cada caso, en el paciente 1 un 80,1 % de HbC, en el paciente 2 un 63 % de HbS y en el paciente 3 un

Agradecimientos: Al Servicio de Hematología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid a través de Horiba Medical®, por su aportación en los estudios moleculares.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00047

Molina-Arrebola MA, Alba-Sosa AM, Ruiz-Cara J, Guardia-Alés SJ, Avivar-Oyonarte C. Doble heterocigosis hemoglobina S, C o D y beta-talasemia en una serie de tres casos. Rev Med Lab 2020;1(3):127-131

Tabla I.
Resultados hematimétricos* y bioquímicos de los 3 pacientes y rangos de referencia**

Variable	Paciente 1 HbC/ β^0 -talasemia	Paciente 2 (HbS/ β^+ -talasemia)	Paciente 3 (HbD/ β^0 -talasemia)	Rango de referencia en nuestro hospital (adultos)
Hematíes ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4,84	4,65	7,19	4,3-5,75
Hematocrito (%)	32,5	31,3	41,8	39,5-50
Hemoglobina (g/dl)	10,8	10,2	14,1	13,5-16,5
VCM (fl)	67,1	67,4	58,1	80-101
CHM (pg)	22,3	21,9	19,5	27-34
CHCM (g/dl)	33,3	32,6	33,6	31,5-36
RDW (%)	18,2	21	18,4	11,6-15,5
Reticulocitos (%)	1,12	2,64	1,13	0,5-2,8
Reticulocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	54	126	81	25-105
Test de falciformación	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
Bilirrubina total ($\mu\text{g/dl}$)	0,75	0,65	0,82	0,3-1,2
LDH (U/l)	183	192	176	208-378
Hierro ($\mu\text{g/dl}$)	109	24	92	53-167
Ferritina (ng/ml)	33	483	24	20-250
Transferrina (mg/dl)	255	158	327	200-360
IST (%)	34,5	12,2	22,2	17,1-30,6
Haptoglobina (mg/dl)	87	327	135	70-180
HbS (%)	0	63,3	0	0
HbC (%)	80,1	0	0	0
HbD (%)	0	0	79	0
HbA ₂ (%)	6,8	4,6	6,1	< 3,5
HbF (%)	7,2	5,1	0,5	< 2
HbA ₀ (%)	1,6	15	0	> 90

*Autoanalizador DxH800 (Beckman-Coulter®); **Sistema AU 5800 (Beckman-Coulter®). Hb: hemoglobina.

79 % de HbD. Destacable en los 3 pacientes una cifra de HbA₂ superior a 3,5 %, y en los pacientes 1 y 2 una HbF superior al 5 %.

En el frotis en sangre periférica del paciente 1 se observó anisopoiquilocitosis con abundantes dianocitosis y hematíes irregulares (Fig. 1A), en el paciente 2, anisopoiquilocitosis por presencia de dianocitos, esferocitos y hematíes de aspecto falciforme (Fig. 1B) y en el paciente 3, discreta anisopoiquilocitosis con presencia de algunos dianocitos y algún hematíe de contornos irregulares (Fig. 1C). El test de falciformación con metabisulfito sódico resultó negativo en los pacientes 1 y 3 y positivo en el paciente 2.

Con estos datos, se solicitó estudio molecular al centro de referencia para llegar a una caracterización definitiva

de la hemoglobinopatía estructural, y estudiar su posible asociación con β -talasemia debido a las microcitosis encontradas, obteniéndose los siguientes resultados:

- *Paciente 1*: hemoglobinopatía C en estado heterocigoto ($\beta 6(\text{A3})\text{Glu}>\text{Lys}$; HBB:c.19G>A) asociada a una β^0 -talasemia heterocigota [IVS-2-2NT1(G>A)] y a una α -talasemia homocigota ($-\alpha 3.7/-\alpha 3.7$).
- *Paciente 2*: hemoglobinopatía S en estado heterocigoto $\beta 6(\text{A3})\text{Glu}>\text{LVal}$; HBB:c.20A>G) asociada a una β^+ -talasemia heterocigota ($\beta^{\text{nt-29}^{\circ}}>\text{G}$; HBB:c.79A>G), descartando α -atalasemia asociada.
- *Paciente 3*: hemoglobinopatía D - Los Ángeles (Punjab) heterocigota ($\beta 121(\text{GH4})\text{Glu}>\text{Gln}$; HBB:c.364G>C) asociada a una β^0 -talasemia heterocigota (β° CD8 (-AA) y α -talasemia heterocigota ($-\alpha 3.7/\alpha$).

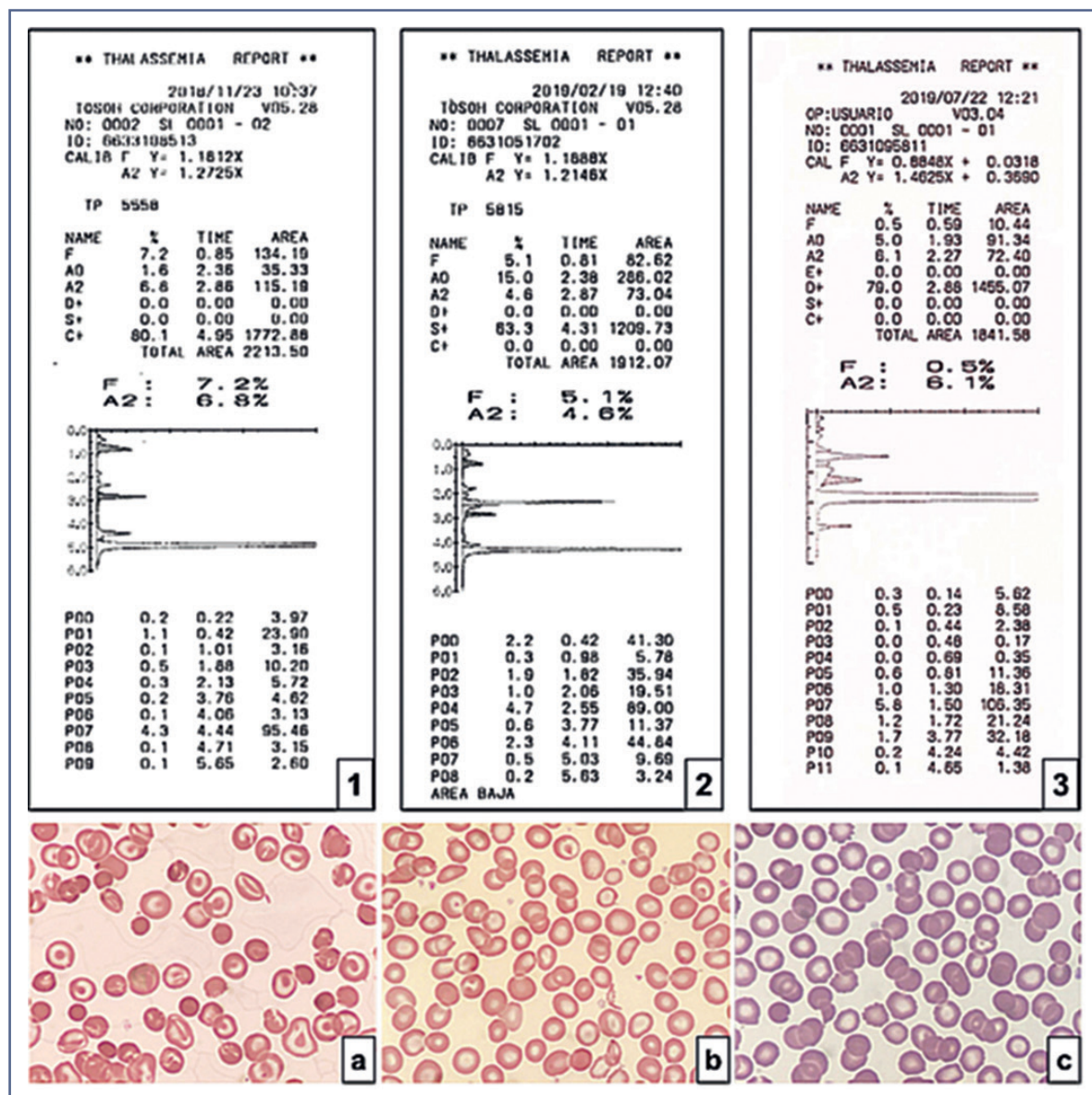


Figura 1 – Gráficas obtenidas por el analizador HPLCTOSOH G8 (HLC-723®G8) en modo talasemia (Horiba Medical®) y frotis de sangre periférica, tinción May-Grünwald-Giemsa (x1000).

DISCUSIÓN

La hemoglobina (Hb) está formada por 4 subunidades proteicas o globinas, iguales 2 a 2, a las que se une un grupo hemo con un átomo de hierro que se une a O₂ de forma reversible. Existen 6 tipos de globinas: alfa (α), beta (β), gamma (γ), delta (δ), épsilon (ε) y zeta (ζ). La Hb adulta es una mezcla de HbA (α₂/β₂), más del 90 %, HbA₂ (α₂/δ₂), hasta el 3,5%, y HbFetal (HbF) (α₂/γ₂), hasta el 1 %. Las cadenas ε y ζ forman parte de la Hb en periodo embrionario (1).

Las hemoglobinopatías constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas producidas por alteraciones de la molécula de hemoglobina. La cadena afectada más frecuente es la β.

Básicamente se dividen en hemoglobinopatías estructurales, por síntesis de Hb anómala, y talasemias, por disminución o ausencia de síntesis de una cadena normal (2).

La HbS es la hemoglobinopatía estructural más frecuente y de mayor impacto clínico. De alta incidencia en etnia negra y árabe, el 45 % del África tropical es portadora y causa la muerte del 15 % de niños africanos homocigotos menores de 5 años. Se produce por mutación en posición 6 del cromosoma 11 de la cadena β, sustituyendo ácido glutámico por valina (α₂/β₆Glu→Val). A baja tensión de O₂, polimeriza, se forman cuerpos tactoides rígidos, distorsionan la estructura adoptando forma de hoz (drepanocito o sickle cell), aumenta la viscosidad y son destruidos prematuramente (3).

Los heterocigotos (rasgo drepanocítico, HbAS o β/β^S) no presentan alteraciones del hemograma, aunque se describen trombosis, hematuria -necrosis papilar-, infartos óseos, rabiomólisis y muerte tras esfuerzo físico intenso o deshidratación (4). Los homocigotos -anemia falciforme o drepanocitosis, HbSS o β^S/β^S - presentan clínica grave, con crisis hemolíticas y de dolor, trombosis, síndrome torácico agudo, priapismo, necrosis avascular ósea, retinopatía, infecciones, etc. Presentan anemia normocítica, con frotis característico, dianocitos, policromasia, eritroblastos, esferocitos y drepanocitos, más en crisis hemolíticas. Los dobles heterocigotos S/ β -talasemia cursan con menor grado de hemólisis, pero más crisis de dolor, retinopatía proliferativa y esplenomegalia debido al mayor nivel de hemoglobina.

La hemoglobina C se produce por la sustitución de ácido glutámico por lisina en idéntico lugar de HbS (α_2/β_2 6Glu→Lys). Originaria de África noroccidental, más del 40 % son portadores. Los heterocigotos (HbAC) son asintomáticos, sin anemia, pero con tendencia a microcitosis. El frotis muestra aislados dianocitos. El homocigoto (HbCC) presenta hemólisis crónica, anemia moderada micro o normocítica, y CHCM en general por encima del rango de normalidad. Morfológicamente, destacan dianocitos, células de contornos irregulares por cristalización de HbC y eritroblastos. Los dobles heterocigotos C/ β -talasemia presentan anemia moderada y esplenomegalia (5).

La hemoglobina D-Punjab (Los Ángeles), se produce por sustitución de ácido glutámico por glicina, posición 121 del cromosoma 11 de la cadena β (α_2/β_2 121Glu→Gln). Su significación clínica es su posible asociación con HbS. Presenta mayor incidencia entre los Sikhs del Punjab (2-3 %); también se describe en afroamericanos (0,4 %) y en países mediterráneos. El heterocigoto no presenta significación clínica. En el homocigoto puede haber hemólisis y discreta anemia microcítica, con algunos dianocitos. En los dobles heterocigotos hemoglobina D/ β -talasemia se produce una condición talasémica moderada, con discreta anemia; el frotis muestra hipocromía, dianocitos y células de contornos irregulares (5).

El método de *screening* aceptado para detección y cuantificación de hemoglobinopatías estructurales y talasemias es la HPLC o Cromatografía líquida de alta presión (6). En nuestro caso, el *screening* se hizo con el sistema TOSOH G11; la caracterización de la variante y dosificación de HbA₂ y HbF con TOSOH G8 (Horiba Medical®). Se trata ambos de sistemas automatizados que usan cromatografía líquida de alta eficacia con intercambiador iónico no poroso catiónico, en programas de 1 minuto (G11) y 6 minutos (G8). La absorbancia del eluido de Hb es cuantificada en doble longitud de onda (415 y 500 nm G11, 415 y 510 nm G8).

Los resultados de los sistemas HPLC son generalmente seguros y reproducibles, pero conviene puntualizar que algunas variantes pueden tener tiempos de retención iguales, y que las variantes glicosiladas tie-

nen un tiempo de retención diferente a las no glicosiladas. De hecho, puede observarse una falsa elevación de HbA₂ que realmente corresponde a HbS glicosilada (7), y no debe confundir con β -talasemia asociada. Por ello, y porque existen más de 1300 variantes conocidas (8), HPLC nunca puede asegurar por sí sola la identificación de una hemoglobinopatía, siendo necesaria una segunda técnica confirmatoria, como electroforesis capilar, test de falciformación o estudio de DNA (6).

En cuanto al porcentaje de hemoglobina anómala, sería de esperar que heterocigotos presentaran la misma cantidad de HbA que de hemoglobina anómala; sin embargo, su proporción es siempre inferior al 50 % debido a que la cadena β normal tiene mayor afinidad por la cadena α que la cadena β anómala, y dicha proporción será aún menor si coexiste α -talasemia, ferropenia o anemia megaloblástica. En homocigotos, la hemoglobina anómala comprende casi la totalidad de hemoglobina (90-95 %), pudiendo observarse discreta elevación de HbF no superior al 3 %. En los dobles heterocigotos/ β -talasemia, la mayor parte de la Hb la constituye la Hb anómala, pero destaca microcitosis e hipocromía, HbF de 2-10 %, y presenta la típica elevación de HbA₂ de β -talasemia. En casos asociados a α -talasemia la HbA₂ será normal (3).

En Europa se recomienda el *screening* de anemia falciforme a recién nacidos (9). España no ha implantado un programa de *screening* nacional, por lo que resulta relevante la detección de posibles casos en nuestros laboratorios, como en *screening* al dosificar HbA_{1c}, estudio de anemias, frotis, microcitosis no ferropénicas, o perfil de inmigrantes (10). Una vez detectada la hemoglobinopatía, procede su estudio y diagnóstico, tanto de casos con implicación clínica como de portadores heterocigotos y así facilitar consejo genético.

En conclusión, dados los movimientos poblacionales en el estado creciente de globalización y debido a la migración de personas procedentes de zonas endémicas de malaria, y, por ende, de hemoglobinopatías estructurales que se han producido como selección natural frente a ella, debemos estar preparados para afrontar diagnósticos hasta ahora prácticamente desconocidos en nuestro medio (10).

PUNTOS A RECORDAR:

- Los casos de dobles heterocigotos hemoglobinopatía estructural y beta talasemia son poco conocidos en nuestro medio, pero es esencial reconocer esta patología por sus implicaciones clínicas.
- Los sistemas HPLC, disponibles para la dosificación de HbA_{1c}, ofrecen de forma sencilla, asequible y reproducible, tanto la detección de variantes de hemoglobina, como su cuantificación en muchas de ellas, así como la dosificación de HbA₂ y HbF.
- Es importante enfatizar la visualización del frotis de sangre periférica: la sola presencia de hema-

tíes falciformes o de dianocitos ya puede orientar el diagnóstico, y el test de falciformación supone una segunda técnica de confirmación de HbS.

- Debe establecerse una estrategia multidisciplinar de colaboración y formación entre distintas áreas clínicas y de diagnóstico en el laboratorio en este campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bain BJ, Wild BJ, Stephens AD, Phelan LA. Globin genes and haemoglobin. In: *Variant Haemoglobins: A Guide to Identification*. 1st ed. Oxford: Wiley Blackwell; 2010. pp. 1-8.
2. Molina MA, Marrero JG C. Hemoglobinopatías estructurales. Síndromes talasémicos. En: *Hematología: Del laboratorio a la clínica*. 1a ed. Jaén: Fundación Alcalá; 2010. pp. 121-41.
3. Bain BJ. Sickle cell haemoglobin and its interaction with other variant haemoglobins and with thalassaemias. In: Bain BJ, editor. *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 3rd ed. Oxford: Wiley Blackwell; 2020. pp. 185-260.
4. Giménez-López MJ, Salas-Coronas J, Villarejo-Ordóñez A, Molina-Arrebola MA, Pérez-Moyano R, García-Bautista JA. Infartos óseos con rasgo drepanocítico. *Rev Clin Esp* 2012;212(10):83-5.
5. Bain BJ, editor. Other significant haemoglobinopathies. In: *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 2nd ed. Blackwell Publishing; 2006. p. 190-233.
6. Bain BJ. Haemoglobinopathy diagnosis: Algorithms, lessons and pitfalls. *Blood Rev* 2011;25(5):205-13.
7. Wajcman H, Azimi M, Cui J, Hoppe C, Flamini M, Ho C, et al. Hemoglobinopathy testing: the significance of accuracy and pitfalls in HbA2 determination. *Int J Lab Hematol* 2017;39(1):e23-7.
8. HbVar: A Database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemias (homepage on internet). [Internet]. Available from: <http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>
9. Lobitz S, Telfer P, Cela E, Allaf B, Angastiniotis M, Backman Johansson C, et al. Newborn screening for sickle cell disease in Europe: recommendations from a Pan-European Consensus Conference. *Br J Haematol* 2018;183(4):648-60.
10. Molina-Arrebola MA, Avivar-Oyonarte C, Salas-Coronas J, Pérez-Moyano R, Giménez-López MJ, García-Bautista JA, et al. Practical diagnosis of red cell disorders in Southern Spain. *Acta Haematol* 2011;127(1):50-5.



Caso Clínico

Daño miocárdico en niño de 5 años con sospecha de COVID-19

Myocardial injury in 5 years old child with COVID-19 suspected

Adela Pozo Giráldez¹, Ángela Moreno Palomino², Concepción Martínez Camarasa¹, Francisco Núñez Gómez² y Arturo Carratalá Calvo¹

¹Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, y ²Servicio de Pediatría. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia

Recibido: 17/09/2020
Aceptado: 24/09/2020

Correspondencia: Adela Pozo Giráldez. Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Avda. Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia
e-mail: adelapozogiraldez@gmail.com

CASO CLÍNICO

Presentamos el caso de un niño de 5 años que acude al servicio de Urgencias de Pediatría por episodio de desconexión del medio. En el domicilio había presentado habla incoherente y supravversión de la mirada, sin respuesta a estímulos verbales. Presentaba sudoración con palidez cutánea, cianosis peribucal, acra y periorbicular. No presentó movimientos tónico-clónicos ni relajación de esfínteres, aunque sí incapacidad para la bipedestación. Los padres referían sensación distérmica, y referían aumento de la mucosidad cuatro días antes. Como antecedentes de interés presentaba un soplo funcional y un riñón displásico multiquístico. No había antecedentes familiares de epilepsia, enfermedad cardíaca ni renal.

A su llegada se encontraba apirético. La exploración clínica y neurológica fue normal. Como exploraciones complementarias se realizó un electrocardiograma (ECG) y ecocardiograma sin alteraciones aparentes. La solicitud de pruebas al Laboratorio de Urgencias (hemograma, hemostasia y bioquímica básica) no mostró

hallazgos significativos. Con objeto de descartar infección por SARS-CoV-2 (coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo grave), se decidió realizar un test serológico rápido por inmunocromatografía que fue débilmente positivo para IgM e IgG.

Para descartar daño miocárdico en el contexto de una posible enfermedad COVID-19, los pediatras solicitaron la determinación adicional de troponina T ultrasensible (cTnT-hs) (método de electroquimioluminiscencia Roche Diagnostics). El análisis sanguíneo reveló un resultado inesperado para cTnT-hs de 192,5 pg/mL (valores de referencia < 15 pg/mL; pacientes entre 1 y 19 años).

Ante la sospecha de que el paciente pudiese estar presentando una lesión miocárdica subyacente se decidió el ingreso en la unidad de Cardiología Pediátrica para monitorización estrecha. Durante la evaluación, se requirieron las pruebas de NT-proBNP (fragmento N-terminal del péptido natriurético tipo B), así como dos test PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y serología IgM e IgG por ELISA para SARS-CoV-2, resultando todas ellas negativas o en el intervalo de referencia de normalidad.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00048

Pozo Giráldez A, Moreno Palomino Á, Martínez Camarasa C, Núñez Gómez F, Carratalá Calvo A. Daño miocárdico en niño de 5 años con sospecha de COVID-19. Rev Med Lab 2020;1(3):132-134

Para lograr filiar la etiología de la posible alteración cardíaca se solicitó periódicamente la cuantificación de cTnT-hs durante la hospitalización manifestando un nivel elevado de cTnT-hs de forma sostenida sin cinética de incremento o descenso a lo largo de todo el episodio (Tabla I).

Ante la ausencia de normalización de los niveles de cTnT-hs y con el fin de dilucidar el diagnóstico se decidió consultar al laboratorio para valorar la presencia de una posible interferencia analítica.

Tabla I.
Resultados cTnT-hs durante la hospitalización del paciente

Admisión	Hora de la extracción	cTnT-HS (pg/mL)
Día 1	11:43	192,5
Día 2	11:23	181,0
Día 4	08:00	177,9
Día 7	00:00	177,6

DISCUSIÓN

La determinación de la concentración de troponinas cardíacas, como troponina T (cTnT) o troponina I cardíaca (cTnI), tiene una importancia principal en el diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM) y se incluye como prueba esencial de la definición universal de IAM. La elevación de troponinas cardíacas también ocurre en un importante número de situaciones clínicas asociadas con lesiones miocárdicas agudas o crónicas que no son IAM, como el vasoespasm coronario, embolia pulmonar, sepsis y causas crónicas tales como enfermedad renal crónica o enfermedad cardíaca estructural (1). No se trata de falsos positivos, sino de auténticas elevaciones de la concentración de troponinas cardíacas no relacionadas con el síndrome coronario agudo, aunque sí con un daño miocárdico. Sin embargo, un verdadero falso positivo se puede originar cuando se produce una elevación mantenida y persistente en el curso de una enfermedad que no guarda correlación con este hallazgo.

En este caso en el laboratorio llevamos a cabo un protocolo de estudio con el fin de detectar y esclarecer una posible interferencia *in vitro*. En primer lugar, se midió la concentración de cTnI por un método alternativo empleando un inmunoensayo quimioluminiscente en dos pasos (Architect-Abbott Diagnostics) mostrando un resultado dentro de la normalidad de 0,5 pg/mL (valores de referencia: < 9 pg/mL; niños < 19 años) por lo que se descartaba lesión miocárdica.

Dicha discrepancia entre las concentraciones de cTnT y cTnI podría sugerir la presencia de un anticuerpo dirigido a la cTnT del paciente (2). La probabilidad

de presencia de anticuerpos heterófilos se descartó al tratar varias muestras séricas del paciente en tubos de bloqueo de anticuerpos heterófilos "Scantibody" (Scantibodies Laboratories, Inc., Santee, CA, EE. UU.) en los que tras incubación, el resultado de cTnT-hs permaneció invariable en todas ellas. Del mismo modo, el valor de factor reumatoide circulante fue indetectable (< 10 IU/mL) en las muestras analizadas. Así mismo, las concentraciones de cTnT-hs guardaron una relación lineal descendente tras realizar diluciones seriadas de las muestras.

La obtención de valores dentro del rango de referencia en otras pruebas bioquímicas (NT-proBNP, procalcitonina) analizadas por el mismo método de electroquimioluminiscencia minimizó la posibilidad de interferencia por otras causas como la presencia de anticuerpos antirutenio o anticuerpos antiestreptavidina.

Por último, para descartar la presencia de anticuerpos frente a cTnT se llevó a cabo la precipitación del suero del paciente con 25 % peso/volumen de polietilenglicol (PEG 6000, Biochemica). Se incubó un suero a temperatura ambiente durante 10 minutos y se centrifugó a 5.800 g durante 15 minutos para posteriormente analizar cTnT en el sobrenadante. El resultado fue de 4,7 pg/mL con una recuperación de un 3 % respecto a la muestra control lo que confirmó la presencia de macrotroponina T en suero, ya que recuperaciones inferiores al 40 % son confirmatorias de la presencia de estos complejos. Tras este hallazgo analítico y dada la buena evolución clínica, el paciente fue dado de alta por el Servicio de Cardiología.

La clave en este caso fue un nivel elevado de cTnT-hs de forma sostenida sin cinética de incremento o descenso a lo largo del proceso. En ausencia de cualquier otra condición clínica que pudiera cursar con una troponina cardíaca elevada de esta magnitud debemos sospechar la presencia de una interferencia analítica. Por ello, en el laboratorio se procedió a aplicar el protocolo de estudio de interferencias; la normalidad del resultado de cTnI, congruente con la situación clínica, orientó la sospecha de hallarnos ante una macrotroponina T (complejo de inmunoglobulina, frecuentemente IgG, unido a TnT) (3).

En un entorno clínico, la elevación de cTnT debido a la macrotroponina parece ser relativamente poco frecuente y se observa con más frecuencia con cTnI que con cTnT. Sin embargo, la prevalencia general de macrotroponinas podría estar subestimada. De hecho, se han encontrado autoanticuerpos anti cTnT en hasta el 9,9 % de los donantes de sangre sanos y de manera similar, se han encontrado autoanticuerpos cTnI en hasta el 12,7 % (4).

Este caso ilustra la importancia de interpretar un resultado de troponina cardíaca en el contexto clínico del paciente y subraya la importancia de la colaboración entre los especialistas implicados. Estas falsas elevaciones de la concentración de cTnT son poco frecuentes, y en la mayoría de los casos descritos se correspondería con interferencias por anticuerpos heterófilos entre otros (5).

Desde el Laboratorio deben surgir iniciativas que alerten en la historia clínica o en los sistemas de petición electrónica de la existencia de estas interferencias con el fin de tenerlas en cuenta a lo largo de la vida del paciente. En nuestro caso concreto, la futura solicitud de cTnT en este paciente ante la sospecha de un síndrome coronario agudo tendrá validez limitada y es responsabilidad del Laboratorio comunicarlo al clínico.

PUNTOS A RECORDAR:

- Ante un daño miocárdico, el valor de troponina mostrará un patrón ascendente y descendente en la mayoría de los casos, mientras que una elevación estable en el tiempo podría indicar la presencia de interferentes.
- La macrotroponina se define como la existencia de cTnT o cTnI unidas a anticuerpos específicos, obteniendo complejos de elevado peso molecular que dificultan el aclaramiento plasmático.
- La presencia de estos complejos puede aparecer en individuos sanos y permanecer en el tiempo, por lo que es necesario tenerlo en cuenta para futuras determinaciones.

- El tratamiento con polietilenglicol y una recuperación del analito inferior al 40 % en el sobrenadante evidenciaría la presencia de macrocomplejos en la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *J Am Coll Cardiol* 2018;72(18):2231-64.
2. Mair J, Lindahl B, Müller C, Giannitsis E, Huber K, Möckel M, et al. What to do when you question cardiac troponin values. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2018;7(6):577-86. DOI: 10.1177/2048872617708973
3. Aliste-Fernández M, Sole-Enrech G, Cano-Corres R, Teodoro-Marin S, Berlanga-Escalera E. Description of interference in the measurement of troponin T by a high-sensitivity method. *Biochem Med (Zagreb)*. 2019;29(2):021001. DOI: 10.11613/BM.2018.021001
4. Adamczyk M, Brashear RJ, Mattingly PG. Prevalence of autoantibodies to cardiac troponin T in healthy blood donors. *Clin Chem* 2009; 55:1592-3. DOI: 10.1373/clinchem.2009.125781
5. Franeková J, Bláha M, Bělohoubek J, Kotrbatá, M, Sečník, P, Kubíček Z, et al. A clinical and laboratory approach used to elucidate discordant results of high-sensitivity troponin T and troponin I. *Clin Chim Acta* 2015; 446:128-31. DOI: 10.1016/j.cca.2015.03.046



Entrevistas/Podcast

La selección de equipamiento en un laboratorio "CORE"

Selection of equipment in a clinical CORE laboratory

Moderador: Enrique Rodríguez Borja

Expertos:

María del Carmen Lorenzo Lozano. Complejo Hospitalario de Toledo. Servicio de Salud de Castilla La Mancha (SESCAM)
José Antonio Noguera Velasco. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Servicio Murciano de Salud
Santiago Prieto Menchero. Hospital Universitario de Fuenlabrada. Servicio Madrileño de Salud (SERMAS)
Guadalupe Ruiz Martín. Hospital Clínico Universitario de Valladolid (SACYL)
María Salinas LaCasta. Hospital Universitari Sant Joan d'Alacant (Conselleria de Sanitat de la Comunitat Valenciana)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el mundo del Laboratorio Clínico se ha acostumbrado al término "CORE", entendido como una solución tecnológica altamente automatizada que presta servicio a distintas áreas de conocimiento dentro del laboratorio. Los distintos proveedores diagnósticos han pasado de promocionar autoanalizadores a plantear proyectos personalizados de gran envergadura que buscan dar una respuesta integral a las necesidades de cada servicio clínico. Este cambio de paradigma hace que las decisiones que tomen los profesionales en este ámbito sean cruciales ya que pueden comprometer el correcto funcionamiento del laboratorio en el futuro.

Las organizaciones en nuestros laboratorios son fuertemente dependientes de las herencias recibidas y del grado de colaboración local entre las diferentes áreas de conocimiento del diagnóstico *in vitro*, de ahí que no exista un diseño "CORE" arquetipo que pueda aplicarse a todos los laboratorios. Es por ello por lo que los editores de la *Revista de Medicina de Laboratorio* hemos decidido consultar a cinco jefes de servicio de reconocido prestigio en nuestro país con el fin de conocer sus opiniones al respecto. Para ello les hemos planteado una serie de preguntas sobre diversos aspectos a tener en cuenta a la hora de seleccionar un proyecto de estas características. Esperamos que sus respuestas y reflexiones sean de interés y utilidad para nuestros lectores.

¿Existe un número determinado de muestras/día por encima del cual se debería orientar hacia la adquisición de una solución "CORE" frente a soluciones más modestas ("stand-alone")?



Mamen Lorenzo: Una solución "CORE", en un laboratorio que tenga cierta complejidad, es una apuesta recomendable siempre que esté bien dimensionada para la actividad realizada. La configuración de esa solución de automatización debe adecuarse al tipo de laboratorio al que está dirigida. Va a depender de las pruebas a integrar y de los requerimientos pre y posanalíticos que se deseen incorporar.

Quizás no se trata de si se puede orientar un laboratorio o no hacia una solución "CORE", sino de qué requerimientos debe cumplir una solución de este tipo en función de las necesidades de cada laboratorio. Considero que se mejora el flujo de trabajo, el rendimiento y la productividad de cualquier laboratorio. Además, en un laboratorio "CORE" disminuyen las tareas manuales, mejora el tiempo de personal disponible para realizar otras funciones, disminuye el número de tubos extraídos al paciente y el número de alícuotas necesarias, entre otras.

José Antonio Noguera: La gran mayoría de los laboratorios tenemos nuestras características "hechas" o prefijadas. Podríamos decir que existen una serie de factores (personal disponible, organización preanalítica, etc.) que influyen en esta decisión si bien este número de muestras "límite" puede ser cambiante. Por encima de las 1000 muestras al día me plantearía una solución "CORE". Por debajo podría decidirse por equipos "stand-alone" siempre que se ganara en dinamismo. Obviamente el rendimiento económico debe considerarse a la hora de tomar una decisión de estas características.

Santiago Prieto: Personalmente nunca me ha gustado el término "CORE", sin embargo, ha tenido una amplia difusión. Tengo dudas de que todos tengamos el mismo concepto que puede variar desde una "sala de máquinas" a un área de autoanalizadores que permite una cierta "tronalidad técnica". Yo lo definiría como un área técnica que integra equipos con alta automatización, conectados entre sí mediante un LAS (sistema de automatización de laboratorio) y que incluye potencialmente pruebas de todas las áreas de conocimiento del laboratorio. Y más que establecer un número lo enfocaría a varios factores como si va a incluirse el laboratorio de urgencias, el número de analizadores a conectar, el diseño de procesos de reprocesamiento o recuperación de muestras, el tiempo comprometido de entrega y el personal técnico disponible. Con todas estas limitaciones conceptuales, desde unas 250 pacientes/peticiones día podría ser aconsejable un sistema de este tipo y lo considero obligado por encima de 500 pacientes/peticiones día.

Guadalupe Ruiz: Considero que cualquier laboratorio, por pequeño que sea, debe optar al mayor grado de automatización, consolidación e integración posible, siempre que los costes sean razonables y asumibles. El número de muestras/día es un dato muy importante, a partir del cual la industria estima la cantidad que puede invertir en "hierro" (sic) para que sin un coste excesivo en el precio de los reactivos pueda aspirar a ganar un concurso público o negociar con un laboratorio o corporación privada.

María Salinas: En esta decisión deben pesar otros factores, no solo el número de muestras. Lo primero que tiene que tener claro un Laboratorio Clínico es su visión. La adquisición de una solución tecnológica centralizada debe tener como prioridad el liberar de tiempo al personal facultativo para la realización de tareas como la orientación del laboratorio al paciente. Esta es la misión primordial del Laboratorio Clínico, esto es, la participación activa en procesos de prevención, diagnóstico, seguimiento y tratamiento. Si este tipo de soluciones simplifican los flujos de trabajo y dejan tiempo para realizar un enfoque dirigido al paciente, su adquisición es más que necesaria.

A la hora de preparar un concurso público, ¿es más conveniente disponer de un único lote que contenga el grueso del laboratorio automatizado y por tanto un proveedor único o por el contrario veis más oportuno el fraccionarlo en lotes diferentes?

Mamen Lorenzo: Ambas opciones son igual de válidas, aunque me inclino por dos lotes. Diferenciar al menos en dos tipos de muestra: suero/plasma por un lado y sangre total más muestras de coagulación. Considero que no hay puntos comunes en esos circuitos. Hay ventajas en la unificación en un único lote que son menos importantes a mi juicio como sería disponer de una única cadena de automatización para la solución "CORE" o solicitar más ventajas en procesos pre y posanalíticos. Pero en realidad, cuando se configura una única cadena con un único proveedor, puede que no coincida que sea el proveedor más indicado para todas las metodologías y esto es un factor a tener en cuenta. De hecho, es frecuente que incluso la entrada de muestras (suero/plasma vs. sangre total/citratada) sea distinta. Aun así, un laboratorio de tamaño mediano puede beneficiarse de la configuración en un único lote.



José Antonio Noguera:

En nuestro laboratorio de elevada actividad actualmente tenemos dos lotes. Un primer lote potente y altamente automatizado que incluye toda la bioquímica y la inmunoquímica y un segundo lote con toda la hematología en equipos "stand-alone" desconectados de la cadena principal.

En mi opinión no aporta mucho tener un "CORE" unificado y de hecho considero que dependerá de manera importante de los requerimientos de espacio y de las posibilidades arquitectónicas de cada laboratorio, siendo este último un elemento muy restrictivo. Si estos requerimientos son grandes, podrá interesar un "CORE" único. Si no, fraccionar en lotes puede ser la solución más operativa. Huelga decir que unificar la bioquímica y la inmunoquímica en un lote único es altamente interesante desde el punto de vista económico.

Santiago Prieto: Depende del enfoque del concurso. No todos los equipos son compatibles entre sí y ninguna empresa en el mercado dispone de la mejor oferta para todas las opciones. La solución sería un sistema abierto que permita la conexión más o menos inteligente de equipos de otras empresas junto con el compromiso de conectividad. En esa línea hay dos opciones: a) seleccionar un lote que incluya un número elevado de técnicas y exigir declaración de la conectividad (compromiso escrito) con otros equipos; y b) la mejor opción sin duda (difícil de conseguir en el entorno de los interventores, si bien la nueva legislación la hace posible) sería sacar el sistema de automatización

como un acuerdo de "alquiler" abierto y renovable y una vez fijado, un concurso de analizadores conectables. Es más complejo, pero la instalación de un sistema de estas características no debería fijarse a 4 o 6 años. Las conexiones con los distintos equipos sí. ¿Cómo se paga? Como un alquiler fijo con una serie de ajustes y penalizaciones (paradas, problemas de conexión). Ahora pagamos el "CORE" a través de reactivos y es difícil identificar el coste real.

Guadalupe Ruiz: Por definición, considero que lo más eficiente es adjudicar un lote único con el mayor número de parámetros posible en el lote, garantizando que pueda haber competencia en todo momento entre los distintos proveedores.

María Salinas: Prefiero un lote único. Nuestro laboratorio tiene una actividad intermedia si comparamos con otros laboratorios clínicos. Si realmente queremos una automatización lo más completa posible debemos apostar por un proveedor único (o una unión temporal de empresas) ya que fraccionando en lotes difícilmente conseguiríamos una automatización en un entorno de nuestras características. Otro aspecto interesante es aprovechar y potenciar el prestigio del laboratorio para despertar el interés de los proveedores. No todo está en el tamaño.

Más allá del coste, ¿qué aspectos (proyecto general, tamaño, rapidez analítica, manejo de la flexibilidad, mayor cartera de pruebas, etc.) consideráis claves a la hora de elegir un proyecto de automatización global del laboratorio?

Mamen Lorenzo: Los aspectos más importantes para mí son garantizar la mejor calidad analítica y cumplir los tiempos de respuesta pactados. También realizar una gestión personalizada de cada muestra en ese sistema, es decir, poder gestionar cambios en las peticiones en función del tipo de paciente, así como gestionar test reflejos, ampliaciones y repeticiones sin penalizar el tiempo de respuesta. Otro aspecto muy importante es garantizar una buena comunicación entre el *middleware* y el sistema informático del laboratorio. En tercer lugar, valoro un proyecto global que dé la flexibilidad buscada, el poder incorporar los procesos preanalíticos que se desee y que el flujo de muestras sea lo más automatizado posible.

José Antonio Noguera: Para nosotros el concepto de integración con toda la fase preanalítica es algo básico y fundamental. Aparte de los aspectos ya comentados, valoramos especialmente los procesos de automatización de los equipos analíticos ya sea en la propia puesta en marcha como en sus procesos de mantenimiento. Por último, destacaría el tener una correcta trazabilidad de las muestras a lo largo de la solución tecnológica.



Santiago Prieto: Por definición las ofertas nunca se ajustan a la realidad, de hecho, el porcentaje de promesa suele superar al de realidad. Nosotros valoramos especialmente la existencia de un calendario del proyecto que contemple una serie de penalizaciones por incumplimiento; que el proyecto sea modular ofreciendo la posibilidad de crecer o modificarse en función de necesidades futuras; que la conexión entre *middleware* y SIL esté bien definida en su funcionamiento (archivos *vs. host-query*); como es el tráfico en ampliaciones, anulaciones, capacidad de recuperación del tubo desde almacén y si es capaz de reajustar la ruta del tubo en función de diferentes eventos o prioridades. También es interesante saber si es capaz de enviar las alarmas, resultados de control y bloquear determinados test o analizadores en función de esos datos. Por último, destacaría la conectividad declarada (con evidencias, no promesas) con equipos de otras empresas.

Guadalupe Ruiz: Si bien todos esos aspectos citados son muy importantes, yo valoraría especialmente las soluciones ofertadas en las áreas preanalíticas y posanalíticas. Por ejemplo, la versatilidad en desencadenar test reflejos o los procedimientos de almacenamiento de muestras a corto y largo plazo, dado que es conocido que es donde se producen la mayor parte de errores de laboratorio. Otro aspecto relevante es conocer las dimensiones físicas de estas plataformas ya que en muchas ocasiones la escasez de espacio es un factor que puede ser limitante. De hecho, las grandes cadenas normalmente necesitan un gran espacio único, diáfano que no siempre está disponible.

María Salinas: La alta automatización y el manejo de la flexibilidad es clave en nuestro concepto de laboratorio. Nosotros apostamos por un laboratorio "LIDER", enfocado al paciente. En este modelo el profesional del laboratorio además de utilizar su conocimiento añade imaginación creativa y liderazgo al proceso de atención al paciente en todas sus fases. No solo actúa sobre la hipótesis del clínico que solicita la prueba, sino que añade nuevas hipótesis (añade o elimina pruebas), y aumenta en mucho el diagnóstico y la prevención. Así mismo se implica activamente en que el resultado se comunique, se revise y se tome la correcta acción. Sin un potente sistema automatizado que otorgue amplia flexibilidad al profesional, este modelo difícilmente puede alcanzarse.

¿Consideráis que el circuito de muestras urgentes debe englobarse siempre dentro del proyecto global o debe mantener su independencia al margen del "CORE"?

Mamen Lorenzo: Para mí es una ventaja incluir el circuito urgente, creo que se puede aprovechar un flujo de trabajo más eficiente como es automatizar la activación de la petición, centrifugación de muestras, análisis y reanálisis, y archivo de muestras urgentes. Si existe una configuración correcta en cadena y *middleware* de priorización de muestras urgentes, el incorporar la urgencia en el "CORE" permite estandarizar los tiempos de respuesta.

José Antonio Noguera: *A priori* el circuito urgente debería estar unificado. Frecuentemente algunos proveedores disponen de ramales extra en las soluciones tecnológicas (casi siempre en cabecera) dedicados casi en exclusividad a las muestras urgentes o prioritarias. Estos ramales pueden funcionar adicionalmente como equipo *backup* para pruebas poco frecuentes de rutina. La clave es asegurarse que el *middleware* sea capaz de gestionar las prioridades de una manera efectiva y ofrecer unos tiempos de respuesta acordes a la necesidad.

Santiago Prieto: Si el sistema es válido, la inclusión de urgencias es más que recomendable: a) desde el punto de vista de los RRHH (no tener "dos laboratorios" ya que la productividad baja en los valles en ambos); b) desde el punto de vista de trazabilidad: la técnica y el equipo son los mismos; y c) desde el punto de vista de la adecuación, evitamos que la prueba se pida en rutina y en urgencia. Los inconvenientes pueden ser la resistencia interna a lo que representa como cambio organizacional ("¿yo soy de rutina o de urgencias?" y la aparición de un posible retraso de la urgencia en los "picos" de rutina. Ese es un aspecto que debe explicitar el proveedor y puede ser cuantificado. En un pico siempre habrá retraso, pero hemos de concretar qué tolerancia aceptamos para que fuera del pico el tiempo de respuesta sea menor.



Guadalupe Ruiz: Aunque cada proyecto es un mundo y debe analizarse pormenorizadamente, por definición, la unificación de circuitos de muestras es recomendable. Han de ser el SIL junto con los *middlewares* que gobiernan el equipamiento los que deben poder agilizar el análisis de determinadas muestras en función de la prioridad, tipo de paciente,

ámbito, servicio peticionario, ubicación, etc. Comparar equipamiento para urgencias y programada es más rentable para el proveedor porque puede optimizar las máquinas instalando el menor número necesario y para el usuario porque el gasto en calibración y control, así como el número de efectivos necesarios para manipularlas, se reduce.

María Salinas: Hay que hacer un esfuerzo y unificarlo. Consideramos que vale la pena. Para nosotros todo son ventajas. El laboratorio a nivel funcional deviene un grupo único y todo el personal sabe cuál es la visión del mismo. A nivel tecnológico creemos que ya es perfectamente posible garantizando los tiempos acordados. Además, el laboratorio a nivel externo ofrece una imagen de unidad muy valiosa para con el resto de unidades del hospital.

¿Creéis que la "cadena" que suministra un flujo automático de muestras a los distintos autoanalizadores debe soportar todos los tipos de tubos disponibles en el laboratorio o por el contrario es conveniente disponer distintas cadenas especializadas en uno o dos tipos de muestra a lo sumo?

Mamen Lorenzo: Me gusta la configuración en dos cadenas, aunque es igualmente viable una sola. Hay que tener en cuenta que todas esas muestras no siguen circuitos idénticos. En las cadenas únicas suelen existir dos ramas diferenciadas que es similar a que el proyecto conste de dos cadenas. Por tanto, ambas propuestas son válidas y eficientes. Como ventaja, nombraría la mayor polivalencia del personal al ser una sola cadena de un mismo proveedor. Y como dificultad, la coordinación técnica de un proyecto común que incluye varias áreas de conocimiento que pueden estar lideradas por diferentes profesionales.

José Antonio Noguera: Hoy por hoy las soluciones tecnológicas que ofrecen los proveedores habilitan a la existencia de un único flujo de muestras siempre y cuando se disponga de suficiente espacio arquitectónico. La principal ventaja es que se ahorra en personal, pero por otro lado nos arriesgamos a que en la unificación se pierda conocimiento y habilidad (o "*expertise*") en el manejo de equipamiento concreto por parte de los técnicos.

Santiago Prieto: Depende de cada centro, organización y cartera de pruebas. Sobre el papel, muestras de suero, orina y plasma heparina compartirán equipamiento. EDTA y plasma citrato compartirán otro grupo de equipos. Todo movimiento de tubos en el sistema implica que disminuye la disponibilidad de movimiento de otros, parece que la "convivencia" de ambos no aporta valor al proceso. Otra cosa es que la entrada sea común (mejora el proceso de recepción de rutina y sobre todo de urgencias) y luego el sistema tenga dos ramas de proceso y una o dos ramas de almacenamiento común.

Guadalupe Ruiz: Depende del proyecto, pero considero que, si técnicamente es posible, cuanto mayor sea el grado de integración, mayor será el nivel de eficiencia. Por lo que veo de interés intentar disponer de un único flujo de muestras.



María Salinas: Nosotros apostamos por un único flujo de muestras único sin importar el tipo de tubo. Creemos que simplifica los procesos y permite disponer de un menor número de analizadores y/o rutas de procesos.

Mientras que hay soluciones tecnológicas que trabajan con racks de muestras en diferentes fases otras

prefieren manejar tubos individuales durante todo el proceso. ¿Qué opinión os merecen ambas opciones a efectos de operatividad en el día a día?

Mamen Lorenzo: Personalmente, creo que el modo de trabajo no es tan relevante siempre que dé respuesta a los circuitos deseados de trabajo. Por tanto es necesario que exista un equipamiento adecuado para garantizar la flexibilidad deseada. Es importante un *middleware* que cubra esa gestión, una configuración correcta en relación a la carga de trabajo en los diferentes analizadores, así como la configuración de pruebas en cada equipo. Todo ello con el objetivo de alcanzar la máxima eficiencia.

José Antonio Noguera: El modelo tubo a tubo *a priori* es mejor. Las soluciones basadas en el *rack* de tubos tienen el inconveniente de que es más complicado rescatar tubos individuales. De hecho, la mayoría de proveedores ya han cambiado sus sistemas a tubo único o lo harán a medio plazo.

Santiago Prieto: Parece claro que es más efectivo el manejo de tubos individuales, sobre todo si los procesos y las rutas son complejos y/o incluyen la urgencia. El uso de *buffer* temporales es esencial para mejorar los tiempos de respuesta, ya sea en el propio analizador o mejor en el sistema de automatización. Esto permite retrasar las muestras en función de determinados criterios y dar prioridad a las que cumplen otros. Defendemos el concepto RISO (*random in, smart out*) que define la eficiencia del sistema por el modo que prioriza la salida de los resultados independientemente del momento en que entró la muestra. Si esa priorización de salida está organizada no solo como urgencia y rutina sino con una graduación: Urgencia > Hospital de Día > Hospitalización > Consulta de alta resolución > Consulta (y en esta la óptima a partir de la fecha en que el resultado es esperado), el sistema ahorra equipamientos innecesarios y mejora las respuestas.

Guadalupe Ruiz: Soy partidaria del manejo individual de los tubos y que estos estén libres, disponibles y fácilmente accesibles lo antes posible para permitir desencadenar reglas reflexivas de manera ágil y rápida.

María Salinas: Por operatividad y dadas las características de nuestro laboratorio donde el grado de ampliación/baja de pruebas sobre la petición original es muy elevado, no nos interesa trabajar con equipos o soluciones que trabajen con *racks* ya que "secuestran" el tubo impidiendo una eficacia máxima en los procesos reflexivos.

Históricamente, la fase pre/posanalítica ha sido siempre la más olvidada a la hora de confeccionar las soluciones tecnológicas "CORE" y de hecho algunos fabricantes o no la tienen muy explotada o la han mantenido no integrada dentro del proceso automatizado (p. ej. robots clasificadores externos). ¿Creéis que esta tendencia está cambiando? ¿Consideráis que debe estar totalmente integrada a todos los niveles (clasificación, distribución, alicuotado, rechazo de muestras, índices serológicos, serotecado y almacenamiento)?

Mamen Lorenzo: En relación a la tendencia existente creo que son ciclos, en general se busca incorporar muchos procesos pre y posanalíticos en cadena, pero no siempre se alcanza el rendimiento deseado. Puede que se deba a que no se ajusta la configuración a la actividad real o a las necesidades del laboratorio. Independientemente de los procesos automatizados en cadena debe de existir una Unidad de Preanalítica importante externa. Si la unidad de preanalítica es una única puerta de entrada al laboratorio, hay muestras que no tienen que entrar en cadena y una solución externa mejora el rendimiento de la solución automatizada. Además, un equipo externo preanalítico evita que lleguen a la cadena problemas con la muestra o la petición.

José Antonio Noguera: Las fases pre y posanalítica deberían estar totalmente integradas en la solución tecnológica a todos los niveles (clasificación, distribución, alicuotado, rechazo de muestras, índices serológicos, serotecado y almacenamiento). La fase pre y posanalítica son las grandes olvidadas. Cuanto mejor conectadas mejor rendimiento para el laboratorio.

Santiago Prieto: Desde un punto de vista de proceso, este debe ser completo e incluir todas las fases. La fase post, mediante sistemas de *buffer* mientras no esté terminada la petición y sistemas de almacenamiento (refrigerado o no) cuando la petición esté completa, cada vez es más utilizada por los fabricantes con buenos resultados. En cuanto a la fase preanalítica hay mucho margen de mejora. Para que sea integrable y útil debe reunir una serie de características: a) recepción de la petición: la lectura del tubo debe generar una consulta al LIS e incorporar la muestra/petición. Esto requiere rapidez de conexión (*host query* a ser posible) y *buffer* en la entrada; b) hay que comprobar si son necesarios varios protocolos de centrifugación en función de las pruebas solicitadas (no es lo mismo plasma, plasma citrato, que suero); c) análisis de muestra (volumen e

índices) antes de empezar el procesamiento; y d) definición de proceso para realizar alicuotado antes o (mejor) después del análisis, así como un área de salida para las muestras recibidas, centrífugas y chequeadas que deben ser derivadas a otras áreas del laboratorio.

Guadalupe Ruiz: *A priori*, soy partidaria de que se gestione todo de una manera integrada. De nuevo ganamos en eficiencia al poder simplificar procesos y ahorrar en personal que hasta este momento realiza procesos mecánicos completamente manuales sin valor añadido alguno.

María Salinas: Apostamos por una integración completa, de hecho, consideramos que no hay más remedio. Simplificando el concepto abogamos por un laboratorio clínico que a nivel analítico “funcione solo” o con el mayor grado de automatismo. Esto nos permitirá ganar tiempo para lo realmente importante que es centrarse en el paciente. Tradicionalmente se ha considerado que a mayor grado tecnológico, menor necesidad de personal en un laboratorio. No podemos estar más en desacuerdo. Aunque quizá el planteamiento puede ser más o menos válido en la escala técnica, el desarrollo tecnológico hace que se produzcan más datos que deberán ser transformados juiciosamente en información y conocimiento por parte del personal facultativo. Es lógico pensar que haremos falta más que nunca y en mayor número.

¿Consideráis que la capacidad y potencial de los diferentes *middlewares* o aplicaciones informáticas asociadas al manejo y explotación de la “cadena” son factores cada vez más decisivos a la hora de tomar una decisión de una solución frente a otras?

Mamen Lorenzo: Sí. Se encargan de la gestión de todo el proceso. Es imprescindible tenerlo en cuenta. La información proporcionada por el *middleware* y su capacidad gestora es garantía de éxito. Entre otras, control de la actividad diaria, de tiempos de respuesta, desviaciones de calidad y de carga por analizadores, medida de KPIs (*key performance indicators*) o incorporar un cuadro de mando apropiado.

José Antonio Noguera: Como profesionales creo que deberíamos interesarnos más por las prestaciones de estos productos ya que cada vez son cada vez más importantes. Independientemente del SIL y de su alcance (que normalmente no contempla todas las funcionalidades de manejo óptimo de la cadena), los *middlewares* nos dan cada vez más soluciones en el día a día del laboratorio. El SIL siempre será la herramienta de validación fisiopatológica pero los procesos automatizados puramente analíticos deben estar bajo el paraguas del *middleware*.

Santiago Prieto: Son esenciales y considero que una tarea que los profesionales tenemos pendiente es la de definir claramente tanto sus criterios como la forma de evaluarlos.

Guadalupe Ruiz: Considero que todos los *middlewares* tienden a converger y ofrecer las mismas prestaciones. Es un mundo muy dinámico que se está desarrollando continuamente. Hay que intentar elegir el mejor y más versátil en un momento dado, pero sobre todo, y esto es importante, se debe alcanzar un compromiso con el proveedor para que desarrolle nuevas funcionalidades si así lo solicita el cliente y lo mantenga actualizado de manera periódica.

María Salinas: Hoy por hoy los *middlewares* son elementos claves en los proyectos de estas características ya que en combinación con el SIL pueden tener un inmenso potencial sobre todo en la fase post-posanalítica.

¿En general, qué aspectos consideráis que son claramente mejorables o no se han tenido mucho en cuenta por parte de los diferentes proveedores del diagnóstico *in vitro* a la hora de plantear sus soluciones tecnológicas?

Mamen Lorenzo: La conectividad con el SIL sigue siendo un aspecto a mejorar. Así como se solicitan certificados de conectividad de otros analizadores no se ha trabajado en el desarrollo de conectividad con SIL de manera exhaustiva. Tampoco se han desarrollado formas de implantación de estrategias de adecuación de la demanda en función de la información disponible del paciente.

José Antonio Noguera: Encuentro muchos aspectos con margen de mejora. Yo destacaría: a) la integración total de la pre/posanalítica en las soluciones tecnológicas; b) los diferentes *middleware* existentes en el mercado siguen siendo aplicaciones algo cerradas para el usuario (son más de utilidad al proveedor que puede explotarlos internamente); c) los índices séricos deben disponerse en la preanalítica para permitir los rechazos previos; y d) las cadenas basadas en sistemas de aire comprimido generan demasiado ruido por parte de los compresores.

Santiago Prieto: La conectividad con otros sistemas analíticos. Esa conectividad debe estar definida como conexión física, gestión de colas en el analizador, gestión de alarmas de resultados y notificación al *middleware* del estado de sus test. Ejemplo: si no está calibrado o tienen problemas en el QC, no debería enviarle muestras.

Guadalupe Ruiz: A grandes rasgos, considero que los 4-5 grandes proveedores que existen en estos momentos en el mercado europeo en los últimos años han hecho grandes esfuerzos por mejorar sus equipamientos y adaptar sus proyectos globales a las necesidades de los distintos tipos de laboratorios. Si bien es cierto que, en algunos casos, se han limitado a mejorar versiones de equipos ya existentes evitando cambios radicales. En un mundo tan competitivo, que evoluciona tan rápidamente (se estima que con ciclos de 5 años), se

deben afrontar periódicamente transformaciones que mejoren el servicio que ofrecemos a nuestros usuarios: pacientes, médicos y organización.

María Salinas: Los proveedores deben enfocar cada vez más sus acciones hacia el paciente (el gran olvidado) no solo hacia la tecnología, los indicadores intermedios o la simple productividad (test realizados, tiempos de respuesta). Estos conceptos son más propios de

modelos de laboratorio tradicionales o puramente tecnológicos. La Medicina de Laboratorio es clave en el proceso de atención al paciente. Al día podemos recibir 1000 peticiones analíticas por lo que tenemos el potencial de mejorar la atención a 1000 personas. Si pensamos en un modelo de laboratorio "líder", el proveedor debe ir mano a mano con nosotros y alinearse con nuestra visión que no es otra que obtener el máximo beneficio en el paciente/ciudadano.

