

PLAN FUNCIONAL DE LA UNIDAD DE
INMUNOLOGÍA Y BIOLOGÍA
MOLECULAR

AÑO 2010

HOSPITAL SAN PEDRO DE ALCANTARA

INDICE:

I.-INTRODUCCIÓN

II.-ACTIVIDAD ASISTENCIAL

1. ANALÍTICA

1. FASE PREANALÍTICA:

1. Recepción de muestras:
 - Cobertura.
 - Organización.
2. Sistema informático de laboratorio.
3. Plan de Bioseguridad
4. Valores de Referencia

2. FASE ANALÍTICA

1. Unidades funcionales
 - Autoinmunidad
 - Inmunología Humoral
 - Inmunología Celular y Citometría
 - Biología Molecular y Secuenciación Genética.
 - Oncología Molecular.
 - Centros Externos
2. Cartera de Servicios
3. Mejora continua de la Calidad
 - Control de Calidad
 - Libro de Incidencias Técnicas o Informáticas.
 - Protocolos Normalizados de Trabajo (PNT).
 - Rotulación del laboratorio.
 - Guías rápidas plastificadas.
4. Plan de Mantenimiento

3. FASE POSTANALÍTICA

2. CONSULTA DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA

3. ATENCIÓN CONTINUADA

III.-EVOLUCIÓN DE LA ACTIVIDAD ASISTENCIAL

IV.-MEDIOS

1. MATERIALES

1.1 Espacio físico

1.2. Material inventariable y cedido

2. RECURSOS HUMANOS.

V COMISIONES CLINICAS Y GRUPOS DE TRABAJO

VI.- DOCENCIA, FORMACIÓN CONTINUADA E INVESTIGACIÓN

VII PROPUESTAS DE MEJORA

I.-INTRODUCCIÓN

La Unidad de Inmunología se ha desarrollado en los últimos años hasta alcanzar una asistencia integral tanto analítica como clínica cubriendo prácticamente todas las Áreas de la especialidad. La Consulta de Inmunología de alta resolución permite valorar las interconsultas sobre inmunología de toda la provincia de Cáceres. Desde los últimos tres años se ha montado un laboratorio de Genética Molecular centrado sobre todo en Cáncer Hereditario, además se ofrece consejo genético a familiares de síndromes hereditarios como Fibrosis Quística, Neurofibromatosis, etc. Realiza también una labor docente tanto de Residentes rotantes de otras especialidades como al personal sanitario con cursos y conferencias. Se realizan además diversos proyectos de Investigación en colaboración con varios servicios del Hospital así como la UNEX.

Consideramos nuestra misión dar una atención integral tanto asistencial como docente e investigadora. Nos hemos propuesto cubrir no solo el área de laboratorio sino la atención directa al paciente. La Inmunología y la Biología Molecular son áreas en rapidísima evolución. La incorporación de nuevas tecnologías suponen un reto para ofrecer a nuestra región los últimos avances en Medicina Molecular y Celular en áreas prioritarias como la Oncología Molecular y la Genética, la Autoinmunidad, la Alergología, las Inmunodeficiencias y el SIDA.

II.-ACTIVIDAD ASISTENCIAL

La actividad asistencial tiene dos facetas.

- Analítica.
- Clínica.

- **ANALÍTICA**

El trabajo en el laboratorio se desarrolla en tres fases:

1. FASE PREANALÍTICA:

1. Recepción de muestras:

Cobertura.

La Sección de Inmunología asume:

- Los estudios inmunológicos, incluidos las Inmunodeficiencias, del Área de Cáceres.
- Todas las peticiones de Autoinmunidad del Área de Navalmoral y estudios especiales de Inmunoproteínas.

- Todas las Cargas Víricas y resistencias a anti-retrovirales de la provincia (Hospitales de Navalmoral, Coria y Plasencia y Centros Penitenciarios).
- Estudio de bandas oligoclonales en LCR de la Comunidad de Extremadura.
- Estudio de Cáncer de Mama y Cáncer de Colon hereditario de prácticamente toda la Comunidad Extremeña.

Organización.

Las muestras de nuestra Área sanitaria (Hospitalización, Sala de Extracciones y Centros de salud) llegan a través de la sala de separación de muestras. Desde finales de febrero de 2009 se utiliza un alicuotador automático RSApro de la empresa Roche. En este aspecto existe un cuello de botella en la entrada de volantes en el sistema informático que impide trabajar al día. Muchos de los volantes no traen las etiquetas con códigos de barras y algunos de primaria se están realizando sobre fotocopias lo que impide su captura automática. Por ello las muestras Hospitalarias no llegan a la Unidad de Inmunología hasta las 12 horas y las de Atención Primaria hasta el día siguiente a partir de las 9. El envío de muestras para nuestra unidad debe hacerse mediante tubo de suero color mostaza de 8.5 ml (BD Vacutainer ref 36793).

Las poblaciones linfocitarias y carga vírica así como las biopsias intestinales y lavados broncoalveolares nos llegan directamente al laboratorio.

Las muestras procedentes de otras áreas sanitarias llegan directamente a través de mensajería con las listas de trabajo de los laboratorios de origen.

Las pruebas especiales, como el test de activación de basófilos, estudios de complemento, Burst Oxidativo, etc se realizan en la consulta de nuestra propia unidad previa cita.

2. Sistema informático de laboratorio.

En 2008 se implantó en el sistema informático Omega 3000 de Roche. Funciona con tecnología Host-Query. Los diferentes analizadores del laboratorio están conectados al mismo, de modo que reciben la solicitud de análisis y envían el resultado a su finalización. Para el funcionamiento de las diferentes conexiones ver los Protocolos Normalizados de Trabajo (PNTs) de las distintas secciones. Se han creado reglas informáticas que permiten desencadenar pruebas en función de los resultados obtenidos. En atención primaria se utiliza un volante que se imprime directamente desde el programa de gestión JARA. En especializada se utiliza un volante grafitado con

etiquetas adhesivas de los datos del paciente. El número identificativo es el CIP (Código de identificación personal de Cívitas) en código de barras. El sistema informático permite acceder al historial de peticiones inmunológicas solicitadas a un paciente determinado y sus resultados previos, ayudando a la interpretación de las analíticas y al seguimiento de la evolución del paciente. Todavía no está integrado el histórico previo que conservamos desde 1993. Una vez realizada la validación facultativa de los análisis se exportan al Sistema Informático del SES: Cornalvo que permite la visualización de resultados desde toda la intranet del SES. Hay que tener en cuenta que la utilización del sistema informático debe cumplir la ley de protección de datos en cuanto a confidencialidad y seguridad.

3. Plan de Bioseguridad.

Todos los miembros de la unidad tienen instrucciones sobre cómo tratar las muestras biológicas y qué hacer en caso de accidente. Así mismo contamos con cabinas de flujo laminar de bioseguridad para los procedimientos especiales y áreas aisladas o de acceso restringido.

4. Valores de Referencia.

Se actualizan periódicamente. Se han creado reglas para destacar valores alarmantes o discriminantes de enfermedad.

2. FASE ANALÍTICA

Las determinaciones analíticas están distribuidas en distintas Unidades Funcionales:

1.-Unidades funcionales

➤ Autoinmunidad

Donde se llevan a cabo las determinaciones analíticas encaminadas a revelar la presencia de fenómenos autoinmunes en el organismo de un determinado paciente, centrándose fundamentalmente en la búsqueda de anticuerpos producidos por el propio organismo frente a sí mismo. Las principales enfermedades que se detectan son:

- Colagenosis: ANA, ENAs, DNA, antipéptidos citrulinados
- Enf. Hepatobiliares: AMA, ASMA, LKM1, anti LC-1, anti SLA.
- Endocrinopatías autoinmunes: anti islotes pancreáticos, anti-insulina, anti-GAD, anti-IA2, anti adrenal.

- Anemia perniciosa: anticélulas parietales gástricas, anti factor intrínseco.
- Enfermedad Intestinales: EII y celíaca: anti gliadina, anti endomisio (IgA e IgG) y anti transglutaminasa tisular, ANCA atípico.
- Sd. Antifosfolípido: Acs. anti cardiolipina IgG e IgM y anti B2-GPI
- Vasculitis e insuficiencia renal: ANCA MPO PR3, anti MBG
- Enfermedades ampollosas: Acs. anti sustancia Inter celular y anti membrana basal epidérmica

Tecnología utilizada, dependiendo de las características del autoanticuerpos:

Enzimo inmunoanálisis mediante un Unicap 250 de la empresa Phadia y los analizadores “Alegria” y DSX system de la empresa Palex.

Inmunofluorescencia indirecta mediante un Ap 16 de la empresa Menarini

Inmunoblot mediante tecnología de la empresa Euroimmun (Análisis y Genética).

➤ Inmunidad Humoral

Determinación de proteínas plasmáticas: Inmunoglobulinas, Sistema de Complemento, Pruebas reumáticas, reactantes de fase aguda, haptoglobina, etc.

Orientados al diagnóstico de los defectos del sistema inmune, su activación o consumo, diagnóstico y seguimiento de mielomas, diagnóstico y seguimiento de esclerosis múltiple, etc.

Tecnología utilizada:

Nefelometría cinética BN-II de la empresa Siemens.

Electroforesis de suero y orina (IZASA).

Inmunofijación de suero y orina (IZASA).

Isoelectroenfoque de LCR y suero (IZASA).

➤ Inmunología Celular y Citometría

Se realizan estudios morfológicos y funcionales de las células del sistema inmune.

Mediante la técnica de citometría de flujo se determinan:

- Subpoblaciones de linfocitos y marcadores fenotípicos: estudio celular fenotípico para la evaluación de Inmunodeficiencia, infección por VIH y sd. Linfoproliferativos
- Estudio fenotípico de granulocitos.
- Determinación de la clonalidad de las células linfoides.
- Estudio del fenotipo de los Linfocitos Intraepiteliales de biopsias intestinales.
- Estudio fenotípico del lavado broncoalveolar en paralelo con sangre periférica.
- Función de los linfocitos: respuesta de activación in vitro, temprana y en cultivo, a mitógenos .
- Actividad funcional de monocitos.
- Actividad funcional de neutrófilos (fagocitosis y capacidad reductora),
- Estudio de activación específica de basófilos a alérgenos.

Tecnología utilizada:

Citometro de Flujo EPICS MCL de Coulter-Izasa.

➤ Biología Molecular y secuenciación genética.

Se realiza la cuantificación de la carga vírica del VIH y el estudio de resistencias a los anti-retrovirales.

Tecnología utilizada:

Secuenciación genética en geles de poliacrilamida (Visible genetics de Siemens).

Branched DNA (Versant 440 de Siemens).

ORGANIZACIÓN FUNCIONAL:

Por nuestra mecánica de trabajo, la mayoría de los volantes llegan con sospecha diagnóstica y sólo una petición de screening inicial para que nosotros vayamos desencadenando el resto de peticiones de segunda y tercera elección. La automatización de muchos procesos, informatización y escaneado de volantes ha permitido una mejora en la productividad y tiempo de respuesta, impensables solo hace unos años. Ejemplos de esta mecánica:

Enfermedades reumatológicas sistémicas: el screening inicial es un ANA, si es positivo desencadenamos anticuerpos antiDNA y anti ENAS, si el ELISA de antiDNA es positivo se realiza inmunofluorescencia sobre crithidia para determinar si son de doble cadena; si el screening de ENAS es positivo se realiza inmunoblot para determinar el antígeno responsable.

Gammapatía monoclonal: aunque la petición de inmunofijación (IFE) es muy habitual tanto en peticiones del complejo hospitalario como de atención primaria, debido al alto coste de la técnica siempre realizamos en primer lugar un proteinograma y sólo realizamos la IFE si existe una banda monoclonal en el proteinograma en el momento del diagnóstico (no se realiza en los seguimientos de control ya que esta prueba no cambia con el tiempo, por eso la eliminamos aunque se pida en el volante). Como excepción a esta regla están los mielomas múltiples en tratamiento, en los que aunque no haya banda se realiza IFE como detección de enfermedad mínima residual.

Estudio de subclases de inmunoglobulina G: no se realiza sin descenso de la cifra de IgG total o clínica respiratoria significativa.

Centros Externos:

Gestión de las solicitudes de determinaciones analíticas a Laboratorios Externos. Uno de los objetivos de nuestra Sección ha sido intentar derivar el mínimo pruebas posibles fuera del laboratorio, o como mal menor, fuera de los laboratorios de la Comunidad Autónoma. En la actualidad, dentro del área de conocimiento de la Inmunología sólo estamos derivando los estudios de histocompatibilidad y algunos autoanticuerpos que debido a la baja frecuencia de aparición o la necesidad de ser determinados por radioinmunoanálisis no realizamos en el centro.

- Estudio de Histocompatibilidad: El laboratorio de referencia para estos estudios es el de Inmunología de Badajoz (Dra. González Roiz), ya que dado el tamaño de nuestra comunidad se pensó que era mejor tener centralizado en un solo centro esta tecnología e históricamente se comenzó en el Infanta Cristina por ser el centro de trasplante de riñón en Extremadura. Nos encargamos de filtrar y corregir las peticiones, ya que en ocasiones se piden en años consecutivos cuando es un estudio que sólo se debe realizar una vez en cada paciente. Hemos establecido un envío semanal los jueves, por lo que las muestras son almacenadas a -20°C. Recibimos los resultados por correo y

nos encargamos de introducir los resultados en el sistema informático del hospital. También nos encargamos de la interpretación de los datos a los facultativos que nos la solicitan.

- Laboratorio de Genética del Hospital de Mérida e Infanta Cristina de Badajoz. Donde se tramitan algunos estudios que forman parte de su cartera de servicios.
- Otros laboratorios externos (Oncología Molecular, Genética y “Enfermedades Raras”): Por diferentes razones nos consultan de todo el Complejo Hospitalario sobre pruebas especiales o cuando hay que localizar algún laboratorio que las realice o incluso ayuda a la hora de contactar en inglés con centros extranjeros.

2. Cartera de Servicios

Incluye las determinaciones analíticas que se realizan en el laboratorio, muestra necesaria (tipo, tubo de recogida), técnica utilizada. Ver Anexo adjunto. Se actualiza todos los años y se entrega copia al coordinador de Calidad.

3. Mejora Continua de la Calidad.

Las distintas Unidades de la Sección participan en controles de calidad externos, imprescindibles para obtener en el futuro el Certificado de Calidad y la Acreditación. Además según las instrucciones indicadas por cada suministrador se realizan en cada ensayo controles de calidad internos seguidos de la calibración de cada técnica.

CONTROL DE CALIDAD

Autoinmunidad:

Controles Externos. Todos los años se participa en:

Control de Calidad de la Sociedad Española de Inmunología

Control de Calidad de Autoinmunidad de la empresa PALEX.

Control de Calidad de Autoinmunidad de la empresa Euroimmun.

Controles internos: Diariamente se introducen controles positivos y negativos en las diferentes determinaciones de autoinmunidad y queda acumulado en el software de cada técnica.

Inmunoquímica:

Controles Externos:

Control de Calidad de la Sociedad Española de Inmunología.

Control de calidad externo integrado InterQC de la empresa Vitro, que permite un control en tiempo real del modo de trabajo del laboratorio al ser gestionados los datos diariamente mediante conexión web. Esto permite tanto un control interno de nuestro modo de trabajo como externo, al estar comparado el laboratorio en todo momento con los otros 30 laboratorios participantes en el mismo

Controles Internos: Diariamente se introducen controles internos en el nefelómetro proporcionados por Dade-Behring a coste cero.

Citometria:

Control externo:

Control de Calidad de la Sociedad Española de Inmunología, concretamente en el subapartado de estudio de subpoblaciones linfocitarias.

Control Interno: Además de utilizar el software informático Tetraone para calibración y control diario de las subpoblaciones linfocitarias, utilizamos diariamente el reactivo Flow Set de Izasa, para comprobar la estabilidad de nuestro citómetro a lo largo del tiempo.

Biología Molecular:

Se utiliza el software informático para la carga vírica y la secuenciación genética que incluye los calibradores y controles positivos y negativos, que necesariamente tienen que entrar en el rango adecuado para la obtención de resultados.

LIBRO DE INCIDENCIAS TÉCNICAS O INFORMÁTICAS. Donde se registran las incidencias de los analizadores o del sistema informático y su resolución.

ROTULACIÓN DEL LABORATORIO:

Se han etiquetado con carteles las áreas de trabajo, almacenes, neveras, vitrinas y armarios de cara a la ubicación unívoca en los PNTs. Se ha reorganizado todo el laboratorio con el objetivo de facilitar los flujos de trabajo. Para ello se han asignado los almacenes a las áreas de trabajo más cercanas y se han ubicado las neveras y congeladores en las mismas unidades. Se encargaron rótulos y etiquetas para identificar todas las áreas de trabajo, almacenes, vitrinas, neveras, etc. Esto permite indicar de modo unívoco donde se realiza cada técnica y donde están todos los reactivos de cara a los PNTs.

GUÍAS RÁPIDAS PLASTIFICADAS:

Se han realizado guías rápidas plastificadas de funcionamiento instrumental y técnico para uso a pie de aparato o encimera.

4. PLAN DE MANTENIMIENTO.

Se siguen los protocolos de limpieza de cada uno de los analizadores (diario, mensual, etc). Cada 6 meses revisión por los técnicos especializados de las casas comerciales. En caso de emergencia o avería se avisa al servicio de electromedicina y si es necesario al servicio técnico oficial. En la cara posterior de la Hoja de incidencias figuran los teléfonos de los respectivos servicios técnicos.

FASE POSTANALÍTICA

Funciones:

Validación y Emisión de informes: Se realiza directamente sobre el sistema informático, estando disponibles los resultados on line para todo el Área de Cáceres desde ese mismo momento gracias al portal del SES en la aplicación Cornalvo. Se envía además siempre un informe por escrito.

Garantizar la entrega de informes en el destino y tiempos adecuados: En la actualidad los resultados de citometría e inmunoquímica están disponibles el mismo día que nos llega a la unidad. Autoinmunidad entre 2 y 5 días y Carga Vírica entre 10 y 12 días. Pruebas especiales o estudios escalonados pueden suponer varios días más.

Garantizar la confidencialidad y Utilización de consentimiento informado.

Atender las consultas de los médicos solicitantes relacionadas con la interpretación de resultados.

Contactar con ellos para conseguir información adicional o proponer mediciones adicionales.

Incluir comentarios interpretativos en los informes de laboratorio.

Comunicar a los médicos solicitantes los resultados alarmantes y urgentes.

Se comentan con todos los servicios los casos en los que aparecen resultados no coherentes y se realizan interconsultas diariamente con los facultativos del Complejo Hospitalario sobre los análisis inmunológicos (hipogammaglobulinemias, enfermedades autoinmunes, angioedema, etc).

Hay Unidades con las que se tiene un contacto más estrecho por la patología que tratan:

- Mantenemos contacto frecuente con la Unidad de Enfermedades Infecciosas, con los que se analizan los casos no coherentes con el histórico del paciente en la determinación de Carga Vírica del VIH, con el objetivo de acelerar la determinación de resistencias a los antirretrovirales por secuenciación, aprovechando la misma muestra que tenemos congelada a - 80°C procedente de la determinación de carga vírica del paciente. También se comunican los casos de linfopenia CD4 severa de los pacientes VIH, o los casos de discordancia entre carga viral y cuantificación absoluta de linfocitos CD4.
- Se informan de modo urgente los casos ANCA o MBG positivos y Crioglobulinemia que podrían indicar un fracaso renal agudo.
- También se informan y comentan los nuevos casos positivos de anticuerpos anti-endomisio, muy específicos de Enfermedad Celiaca.
- Se mantiene un estrecho contacto con el laboratorio de Hematología sobre el fenotipo de poblaciones linfocitarias, ya que en muchas ocasiones son el primer indicio hacia el diagnóstico de un síndrome linfoproliferativo crónico o de linfoma. Ocurre lo mismo con los casos de sospecha de neutropenia autoinmune con la determinación de anticuerpos antigranulocito.
- Trimestralmente nos reunimos con los responsables de la consulta de cáncer hereditario y anatomía patológica para analizar los resultados e incidencias que se han producido en el trimestre.

2. CONSULTA DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA.

El grado de implicación en la clínica es muy variable según las áreas de la inmunología. En general se realiza una función como consultor que asesora a la práctica totalidad de las disciplinas clínicas en el manejo del paciente inmunológico y las inmunoterapias. En ese sentido las Interconsultas con otros profesionales son permanentes y se presentan a diario.

- Indicación o asesoramiento de Inmunoterapia, dosificación de Inmunoglobulinas intravenosas, protocolos de vacunación.
- Asesoramiento sobre el paciente ingresado.
- Cumplimiento de documentos oficiales, desde Historias Clínicas e informes.
- Consultas externas fundamentalmente en el área de inmunodeficiencias primarias.

ORGANIZACIÓN FUNCIONAL:

CONSULTA DE INMUNOLOGÍA:

Se trata de una Consulta de Alta Resolución en la que se realiza una historia clínica informatizada y se indican las pruebas complementarias necesarias, muchas de ellas son específicas y no podrían realizarse en la sala de extracciones convencional. Por ello, se realiza la extracción de sangre y las pruebas específicas en la misma consulta. En la propia consulta se realiza la obtención de las muestras dando al enfermo un informe preliminar. En muchas ocasiones se envía al enfermo al servicio de medicina preventiva para vacunar (estudio de respuesta a vacunas o prevención de posibles infecciones). Cuando las pruebas complementarias se han completado se envía al enfermo un informe completo con las recomendaciones indicadas y si es necesario las interconsultas que precise. Se le da de alta o bien se aconseja una revisión (trimestral, semestral o anual según proceda).

En los casos en los que se diagnostica una inmunodeficiencia primaria se realiza el Estudio Familiar de parientes en primer grado (padres, hermanos e hijos) o de todos aquellos que tengan una historia sugerente de inmunodeficiencia primaria. Esto ha permitido el hallazgo de numerosos casos cuyo diagnóstico se ignoraba.

La consulta de Inmunología Clínica no tiene lista de espera y se citan los pacientes inmediatamente. En algunos casos se citan revisiones anuales o semestrales.

También se atiende regularmente a los pacientes del Hospital de Día que acuden a su administración mensual de Inmunoglobulinas intravenosas.

Banco de Sangre de pacientes con déficit de IgA: En colaboración con el Banco Regional de Sangre de Mérida se ha creado una base de datos de pacientes con el déficit cuya situación les permite ser donantes y han aceptado formar parte del Banco de Sangre, en caso de necesidad se centraliza desde Mérida la obtención y distribución de las bolsas. A todos los pacientes con déficit de IgA que no padecen otra enfermedad que les impida o no aconseje donar se les informa sobre el Banco de Sangre de déficit de IgA y si aceptan se incorporan a la base de datos.

Protocolo de erradicación de *Helicobacter Pylori* en Pacientes con Inmunodeficiencias Primarias. Junto al Servicio de Aparato Digestivo se ha acordado tratar los casos con el Protocolo de Omeprazol, Levofloxacino y Amoxicilina de 10 días de duración. Un mes después del tratamiento se realiza un control de erradicación mediante Test del aliento.

Registro Español de Inmunodeficiencias. Se envían regularmente los nuevos casos de inmunodeficiencias primarias. Cada dos años existe una reunión de los laboratorios que participan en el registro, a la cual acudimos desde hace el año 2001 años.

Enfermería: Se ocupa de la organización de las historias y resultados analíticos, control de etiquetas con código de barras del CIP, control de existencias de formularios y volantes, citas de seguimiento, control de asistencias para citas, justificantes de consulta, extracción de muestras, explicaciones sobre pruebas especiales y preparación (Test del aliento, espirometría, test de Grahan, parásitos en Heces, orina de 24 h etc). También se ocupa del control del banco de sangre de déficit de IgA, consentimiento informado y registro en el Registro Español de Inmunodeficiencias Primarias, organización de la genoteca, etc.

3. ATENCIÓN CONTINUADA:

Se realizan guardias de análisis clínicos en el laboratorio central.

III EVOLUCIÓN DE LA ACTIVIDAD ASISTENCIAL

La actividad asistencial en los últimos años ha aumentado vertiginosamente. Esto queda reflejado en la TABLA 1 donde se hace un estudio comparativo del número de peticiones analíticas registradas en la Sección en los años 1998-2009. Por otra parte, en este periodo se han desarrollado nuevas tecnologías de apoyo diagnóstico. El incremento afecta tanto al total de muestras, como a las pruebas específicas de cada una de las Unidades Funcionales. Desde el año 1998 al 2009 el incremento ha sido casi de un 300%.

Este aumento es debido a dos factores fundamentales: la accesibilidad a las peticiones desde atención primaria y el uso del volante grafitado. Este último ha ocasionado algunos abusos pero también ha permitido detectar enfermedades de un modo precoz (por ejemplo la detección de numerosos casos de celiaquía subclínica).

IV.- MEDIOS

1. MATERIALES

ORGANIZACIÓN ESPACIAL:

En la actualidad el laboratorio cuenta con un espacio total de unos 300 m2 cuya distribución en líneas generales consideramos adecuada dada su reciente entrega tras la obra de remodelación del Hospital San Pedro de Alcántara. No contamos con cámara fría ni un lugar reservado para congeladores de -80° C. Tenemos planificado para el nuevo hospital una unidad de terapia celular lo que implica una sala blanca (con presión positiva) de acuerdo a la ley del medicamento.

A.- Área de Autoinmunidad e Inmunoquímica. Se trata de un laboratorio diáfano organizado en 4 boxes mediante poyatas de laboratorio que incluyen baldas y vitrinas. Ocupa unos 90 m2. Adyacente a este espacio se sitúa:

- Un cuarto oscuro para fluorescencia y microscopía
- Área de validación de Autoinmunidad.
- Área de validación de Inmunoquímica.
- Secretaría
- Área de neveras y congeladores.

- Almacén de Autoinmunidad.
- Almacén de Inmunoquímica.
- Aseo y escobero

B.- Área de Inmunología celular. De unos 50 m2. Incluye

- Área de Citometría. Donde se sitúan 2 citómetros de flujo, cabina de bioseguridad, autoclave, contador de células, baños termostáticos, etc.
- Área de Cultivos Inmunológicos y criopreservación. Donde se encuentra una estufa de CO₂ y un contenedor de nitrógeno líquido. Sería importante disponer además de una cabina de flujo laminar.

C.- Área de Biología Molecular. 30 m2. Consta de 2 zonas diferenciadas, una de extracción de ácidos nucleicos y otra para la hibridación. Se utiliza actualmente para:

1º La cuantificación de la carga vírica del VIH, técnica que realizamos para todas las áreas sanitarias de la provincia.

2º Área de Secuenciación Genética. Utilizada fundamentalmente para el estudio de resistencias a los tratamientos antirretrovirales y Genética Molecular, particularmente estudio de Cáncer Hereditario e Inestabilidad de microsátélites. Para su realización es necesaria la existencia de 4 áreas separadas y reservadas para ella (área 1 de preparación de reactivos, área 2 para RT-PCR, área 3 para reacción de secuenciación y área 4 para revelar el resultado en el secuenciador).

D.- Consulta de Inmunología y sala de extracciones especiales. 20 m2. Consulta para diagnóstico y tratamiento de inmunodeficiencias primarias y secundarias, de referencia para toda la provincia. Está acondicionada como consulta con camilla y negatoscopio, toma de muestras y realización de pruebas especiales. Esta consulta sirve además de sala de reuniones y archivo.

Es imprescindible que la consulta se encuentre en el Laboratorio pues en ella se realizan las extracciones para estudios especiales, que en muchos casos son de procesamiento inmediato o congelación inmediata.

2.- RECURSOS HUMANOS:

En la actualidad contamos con los siguientes recursos.

- Tres facultativos especialistas de área de Inmunología:
 - Luis Miguel Fernández Pereira
 - Carmen Cámara Hijón
 - Jose Antonio García Trujillo
- Una Bióloga con contrato de apoyo a la investigación del Instituto de Salud Carlos III. Silvia Romero Chala.
- 4 enfermeras:
 - Modesta Timón Galán.
 - Juana Galindo Casero
 - Montaña Corcho Gómez.
 - Maribel Salgado Chaves.

- 2 Técnico de laboratorio.
 - Carmen Muñoz-Reja Mansilla.
 - Juana Manzano Domínguez.
- 1 auxiliar administrativo (mitad de jornada). Maribel Galan
- 1 auxiliar de laboratorio compartido con el resto de laboratorios (labores de reposición, limpieza, distribución de muestras etc).
- 1 celador compartido con el resto de laboratorios que cumple labores de distribución de resultados analíticos y un celador compartido con Hospital de día que gestiona distribuye las historias clínicas y solicitudes de la consulta de Inmunología.
- Residentes rotantes de otros servicios (Alergia, Nefrología, Neumología).

3.- MATERIAL INVENTARIABLE:

Junto al servicio de Electromedicina se elaboró un inventario de aparatos y material informático. Básicamente disponemos de las siguientes instalaciones y equipos:

- 2 Congeladores de -80°C con sistema continuo de medición de temperatura y alarma remota.
- 2 Congeladores -40°C con sistema continuo de medición de temperatura y alarma remota.
- 6 Frigoríficos 4°C
- 1 Cámara Vitrina 4°C
- 3 Cabinas de flujo laminar de Bioseguridad clase 2 A
- 1 Incubador de CO_2
- Fuente electroforesis 3000V
- Fuente electroforesis 1500V
- Cubetas horizontales de electroforesis
- Cubetas verticales de electroforesis
- Western blott
- Baño con agitación
- Contenedor de Nitrógeno líquido
- Transiluminador
- Sistemas informáticos
- Microscopio invertido
- 2 Citómetros de flujo con muestreador automático.
- Vortex
- Termobloque 95°C
- Termomixer confort
- 3 Centrífugas refrigeradas
- Unidad de robotización de Inmunofluorescencia
- Unidad de robotización de ELISA
- Baño sin agitación
- Trituradora de hielo
- Calentador y agitador magnético
- Agitador orbital
- Lector-lavador de placas de ELISA
- Balanza de precisión
- Preparador de geles para secuenciación
- Horno de Hibridación
- 1 Secuenciador de DNA en geles

- 1 Secuenciador Capilar AB 3130-16 Capilares Genetic Analyzer.
- 3 Termocicladores
- Sistema de Fotodocumentación de Geles Bio-Rad.
- Extractor automatico de DNA y RNA Quiacube.
- Microcentrífuga
- Microscopio de epifluorescencia con sistema de fotografía
- Criotomo.
- Fraccionador de proteínas
- Liofilizador.

4.- CATALOGO DE REACTIVOS Y CONSUMIBLES.

En colaboración con el área de Suministros de la Unidad de Gestión, se realizó el inventario de todos los productos utilizados en el laboratorio de inmunología. Se creó una base de datos que se completó con los datos de la unidad de suministros y se incorporó el número de referencia hospitalario.

V COMISIONES CLINICAS Y GRUPOS DE TRABAJO:

Los miembros de la unidad pertenecen a las siguientes comisiones o comités:

- Comisión de Investigación y Docencia.
- Comité ético de investigación y Ensayos Clínicos del Área de Cáceres.
- Consejo Científico Asesor del Servicio Extremeño de Salud.
- Grupo de estudio de Cáncer Colo-rectal familiar.
- Consejo Asesor sobre Enfermedades Raras del Sistema Sanitario Público de Extremadura. Dirección General de Planificación, Ordenación y Coordinación. Consejería de Sanidad y Dependencia.
- Grupo asesor de laboratorio para el programa Cornalvo y de laboratorios de referencia del SES.

VI DOCENCIA, FORMACIÓN CONTINUADA E INVESTIGACIÓN

1. DOCENCIA:

Sesiones internas. Todos los martes al término de la Consulta de Inmunología que pasamos de forma alterna entre los tres facultativos tenemos una reunión clínica en la que se comentan los casos vistos en la mañana y los diagnósticos finales de los casos de la semana anterior.

Sesiones multidisciplinarias. Con la consulta de cáncer hereditario se realizan reuniones trimestrales en las que se valoran los resultados del laboratorio.

Sesiones del Servicio. Con los residentes rotantes (R1 Nefrología y R3 de Alergia) y personal de Enfermería de la sección. En algunas ocasiones se invitan a profesionales de otros servicios a dar determinadas sesiones de interés para nuestra unidad.

PRINCIPALES CURSOS IMPARTIDOS POR LA UNIDAD:

CURSO DE INMUNOLOGÍA Fondo Social Europeo y Organización Médica Colegial (16 de Noviembre al 3 de Diciembre de 1998). 40 horas. Docente. Colegio de Médicos de Badajoz..

I CURSO DE INMUNOLOGÍA para la Asociación Española del TEL. Cáceres Noviembre de 1999. Director Luis Fernández Pereira y docente. 40 horas docentes.

II CURSO DE INMUNOLOGÍA para la Asociación Española del TEL. Cáceres Noviembre de 2001. Directora Carmen Cámara Híjon y docente. 40 horas docentes.

CURSO DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO EN ATENCIÓN PRIMARIA. Docencia del área de Inmunología (4 horas). Noviembre de 2000. Acreditado por la Comisión de Formación Continuada del M. De Sanidad y Consumo con 3,5 Creditos.

CURSO DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LABORATORIO PARA PROFESORES FP. Docencia del área de Inmunología. Septiembre 2006.

CURSO DE INTRODUCCIÓN A LA GENÉTICA CLÍNICA Y MALFORMACIONES CONGÉNITAS. Dirección del curso y docencia. 20 de Octubre 2009-26 de Noviembre 2009. 25 Horas. Acreditado por la Comisión Nacional de Formación Continuada.

2.FORMACIÓN CONTINUADA:

Los miembros de la unidad han acudido a los siguientes cursos:

- Master en Oncología Molecular CNIO Madrid 2007-2009
- Menarini Diagnostics International Symposium on Autoimmunity. Paris Dic 2009.
- Curso de Análisis Estadístico en Epidemiología Genética. Cáceres 28-30 de Octubre 2009. Organizado por Fundesalud. 22 horas.
- Basic Immunology Teaching Course. Abul K Abbas MD. University of California San Francisco. September 10, 2008. Durante el “6th International Congress On Autoimmunity. Oporto Sept 2008”
- 3rd ESO-CNIO familial Cancer Conference. Madrid June 5-6 2008. The european School of Oncology.
- I Simposio sobre terapia Celular y Medicina Regenerativa. Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón de Cáceres. 12-13 de Mayo de 2008. Cáceres.
- Immunodiagnosics. 3-7 Mar 2008. Lübeck Euroimmunag. Germany

3 INVESTIGACIÓN:

En la actualidad participamos en los siguientes proyectos y contratos de Investigación:

- Contrato de apoyo a la investigación del Instituto de Salud Carlos III. Exp CA07/00144. Un técnico superior de apoyo a la Unidad de Secuenciación: Bióloga Silvia Romero Chala.
- PRIS09007 Nuevos marcadores genéticos y anatómo-patológicos en cáncer de colon: K-RAS, BRAF, inestabilidad de microsatélites y copias del gen EGFR. Estudio prospectivo al diagnóstico en Biopsias de Colon. Investigador principal Luis Fernández Pereira
- PRIS09045. Utilidad del Test de Activación de Basófilos por Citometría de flujo para la prescripción racional y control de eficacia de anticuerpos monoclonales antiIgE e inmunoterapia con venenos de Himenópteros, en colaboración con el Servicio de Alergia del Hospital Campo Arañuelo (Investigadora principal Dra Ana Rodríguez Trabado).
- FIS PI 080804 “Regulación de las Isoformas de arginasa durante el desarrollo de la aterosclerosis. Estudio Comparativo en modelos de ratones y placas de ateroma humano”. En colaboración con la UNEX. Investigadora Principal Inés Corraliza. Departamento de Bioquímica de la UNEX.
- FIS PI 09: Influencia de marcadores de inflamación, aterosclerosis subclínica y lesiones silentes en la neuroimagen cerebral en la relación entre el síndrome metabólico y el deterioro cognitivo ligero. En Colaboración con el servicio de neurología
- Colaboración con el Grupo de Investigación Leishmanacaceras en los estudios CCPQ06 y CCPQ07 de la Universidad de Extremadura como centro asociado para el estudio de análisis electroforético de proteínas séricas.
- Valor del estudio de Bandas Oligoclonales IgG e IgM en el diagnóstico de Esclerosis Múltiple. En colaboración con el Servicio de Neurología.
- Estudio Multicéntrico sobre déficit selectivo de IgA y autoinmunidad.

Proyectos de Investigación Anteriores:

- TITULO DEL PROYECTO: Regulación del estado de activación del Macrófago en la iniciación de la arteriosclerosis: Modulación del metabolismo de la arginina por ligandos pro y anti –aterogénicos. CENTRO: Departamento de Bioquímica de la UNEX. Investigadora Principal Inés Corraliza. ENTIDAD FINANCIADORA: Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social. FISS 2005 (PI05/1383) DURACION DESDE: 2006 HASTA: 2008. Investigador a tiempo parcial. Cuantía de la subvención: 119.595 E

- TITULO DEL PROYECTO: Tuberculosis en especies de interés cinegético en Extremadura: estudios de la inmunopatología de la infección en suínos y monitorización de la evolución de la epizootía. CENTRO: Cátedra de Parasitología. Facultad de Veterinaria. UNEX. Investigador Principal Javier Hermoso de Mendoza. ENTIDAD FINANCIADORA: Ministerio de Ciencia y Tecnología. Ref. AGL2001-0536. DURACION DESDE: 2001 HASTA: 2004 Investigador a tiempo parcial
- TITULO DEL PROYECTO: Estudio de seroprevalencia de brucelosis, leishmaniosis, hepatitis C y E en 2099 escolares de la provincia de Cáceres y descripción epidemiológica de sus niveles de proteínas plasmáticas. CENTRO: Hospital San Pedro de Alcántara. CENTRO: Laboratorio de Inmunología. Hospital San Pedro de Alcántara. **Investigador Principal TC** ENTIDAD FINANCIADORA: FONDO DE INVESTIGACIONES SANITARIAS, FISS 95/814, 1995-96. TITULO DEL PROYECTO: Especificidad e idiotipos de los anticuerpos antihistonas en enfermedades autoinmunes. CENTRO: Hospital Universitario San Carlos Madrid. ENTIDAD FINANCIADORA: FONDO DE INVESTIGACIONES SANITARIAS, FISS 91/178, 1991-1992. **Investigador TC**

Participación en contratos de I+D con Empresas

- Título del contrato/proyecto: Efectos de la atorvastatina sobre marcadores de riesgo vascular en pacientes con HTA y sin ella. Tipo de contrato: Estudio Clínico. Empresa/Administración financiadora: Pfizer (facilitó los fármacos y reactivos para la detección de anticuerpos antiLDL oxidada) y Roche (reactivos para el NT-proBNP). Entidades participantes: Unidad de Riesgo Cardiovascular y Unidad de Inmunología del Hospital San Pedro de Alcántara. Investigador responsable: Juan Francisco Sánchez Muñoz Torrero. Número de investigadores participantes: 3. (Juan Francisco Sánchez, Carmen Cámara Hijón y Luis Fernández Pereira)

4 PUBLICACIONES:

1. Rodríguez-Trabado A, Cámara-Hijón C, Ramos-Cantarino A, Porcel-Carreno SL, Jiménez-Timón S, Pereira-Navarro G, Hernández-Arbeiza FJ, Fernández-Pereira L. Basophil activation test for the in vitro diagnosis of nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity. *Allergy Asthma Proc* 2008 May;29(3):241-249
2. Sánchez Muñoz-Torrero JF, Crespo rincón L, Fernández Pereira L, Agustín Herrero J, Pereira Navarro G, Cámara Hijón C, Torres Pérez F, Costo Campoamor A. Efecto de la Atorvastatina sobre los valores del péptido natriurético cerebral N-Terminal en pacientes con hipercolesterolemia con hipertensión arterial y sin ella. *Medicina Clínica*.127 (14):521-5. 2006. **A**
3. Rodríguez Trabado, A. Cámara Hijón, C. Porcel Carreño, S. Rodríguez Martín, E. Fletes Peral, C. Jiménez Timón, S. Hernández Arbeiza F, Fernández Pereira L. Anaphylaxis caused by cloxacillin: diagnosis with seriated analysis by way of basophil activation test. *Allergy and Asthma Proceedings*.27:269-272. 2006. **A**

4. I Castellano I, Pereira LF, Gómez-Martino JR y Covarsí A. Síndrome hemolítico urémico, descenso de C3 y ANCA positivos. *NEFROLOGÍA*. Volumen 26. Número 1, 146-147. 2006.
5. Porcel SL, Cámara C, Rodríguez A, Fletes C, Jiménez S, Rodríguez E, Alvarado M, Hernandez J, Pereira L, Cobo R. IgE-Mediated Hypersensitivity to Common Earthworm Characterization of Allergen Involved. *Allergy Clin Immunol Int-J World Allergy Or*. 17/6: 246-248. 2005 **A**
6. Alcaide, E Frontera, G Pereira, C Cámara, L Fernández Pereira, D Reina, I Navarrete Citometría de flujo en porcino: aplicación en el estudio de la metastrongylidosis Ref. revista: *Suis* 16:14-25: abr. 2005 **A**
7. Gonzalez-Roiz C, Lopez-Rodriguez MJ, F-Pereira L, Pedrera Zamorano JD. Celiac disease is a good disease--HLA association model [corrected] *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004 Nov;39(5):569-70.. Erratum in: *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005 Feb;40(2):244 **A**
8. Pereira LF, Sánchez JF. Reversible panhypogammaglobulinemia associated with phenytoin treatment. "Scand J of Infect Dis" 2002. 34(10) 785. **A**
9. Grimbacher B, Holland SM, Renner ED, Franco JL, Pietrogrande C, Schmittel A, Erlowyn-Lajeunesse M, Sanchez B, Pereira LF, Davis J, Schnopp N, Weiss M, Abeck D, Belohradsky BH, Puck JM. Diagnosing the Hyper IgE syndrome: incidence of clinical features. *Inmunologia*. 2002 vol 21 (1). pp2-4. **A**
10. F Revenga Arranz, LF Pereira , JF. Paricio Rubio. Anticuerpos anti-citoplasma del neutrofilo: su importancia en la fisiopatología de las enfermedades cutáneas. En España Alonso A, Fisiopatología de las enfermedades cutáneas. **CL**
11. Pereira LF, Sapiña AM, Arroyo J, et al. Prevalence of selective IgA deficiency in Spain: More than we thought. **Blood** 1997; 90 (2), 893. **A**
12. Pereira LF, Subiza JL, Marco FM et al. "Histones interact with anionic phospholipids with high avidity; its relevance for the binding of histone-antihistone immune complexes. **Clin Exp Immunol**. 1994; Aug. 97 (2).175-80. **A**
13. Bustos A, Boimorto R, Subiza JL, Pereira LF, Marco FM, Figueredo MA, de la Concha EG. "Inhibition of Histone-Antihistone reactivity by Histone-binding serum components. Differential effects on AntiH1 versus AntiH2b antibodies. **Clin Exp Immunol**. 1994. Mar 95 (3), 408-14. **A**
14. Subiza JL., Caturla A., Pereira LF., et al. "Evidence that a putative anti-idiotypic monoclonal antibody may actually be recognizing circulating immunocomplexes". **J Autoimmunity**. 1992. 5(3), 363-377. **A**
15. Pereira LF y del Río de la Torre E. "Anticuerpos Anticitoplasma de Neutrófilo". *Piel*. 1993. 8:2. 100-104. **A**
16. De la Concha EG., Boimorto Pérez R. y Pereira LF. "Introducción a la Inmunología Clínica". En Tratado de Medicina Interna *MEDICINE*. 5ª ed. 97: 3805-3813, Ed. Idepsa. Madrid. 1991. **CL**
17. De la Concha EG., Pereira LF. y Marco de la Calle F. "Interacciones celulares en la respuesta inmune y su importancia en la Clínica. En Tratado de Medicina Interna *MEDICINE*. 5ª ed. 97: 3823-3835, Ed. Idepsa. Madrid. 1991. **CL**

18. Pereira LF. "Niveles séricos elevados de antígeno carcino-embriionario ¿son diagnósticos de cáncer de colon en el adulto? En Tratado de Medicina Interna MEDICINE. 5ª ed. 99. Ed. Idepsa. Madrid. 1991. CL
19. Pereira LF. "Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo ¿tienen algún papel patogénico?" En Tratado de Medicina Interna MEDICINE. 5ª ed. 99 Ed Idepsa. Madrid 1991. CL
20. J. Gil, J.M. García Ruiz de Morales, R. Rodríguez de Serna, L. Fernández Pereira, J.E. Viñuela, J. Pérez Lescure. "El laboratorio de Inmunología en la práctica clínica". En GUIA TERAPEUTICA PARA RESIDENTES. H.U. San Carlos. Ed. Idepsa. Madrid. 1990. CL

5 Tesis Doctorales dirigidas:

Título: Valoración de la activación de Basófilos por Citometría de Flujo en el Diagnóstico de reacciones de Hipersensibilidad a Fármacos

Doctorando: Ana Rodríguez Trabado

Calificada como Apto *cum laude* por unanimidad.

VIII PROPUESTAS DE MEJORA:

A lo largo de los 3 últimos años se ha comentado en diferentes ocasiones a la dirección nuestro interés en la creación de un **laboratorio de terapia celular** sobre todo de cara al nuevo hospital y dadas la cercanía y sinergias que se puede establecer con el centro de mínima invasión de Cáceres. Se entregó propuesta en 2006 y de nuevo en 2008 adjuntando en este último caso presupuesto y datos sobre la acreditación según la ley del medicamento.

En colaboración con los Servicios Centrales del SES se está elaborando un catálogo centralizado de pruebas diagnósticas y hemos propuesto ser el laboratorio de referencia para el área de Inmunología en toda la provincia de Cáceres y para técnicas especiales para toda la Región (Bandas oligoclonales en LCR, Basotest, Cáncer hereditario, etc).

Durante el año 2010 se incrementará la cartera de servicio con las siguientes determinaciones: ASCA, antiReceptor de Acetil Colina e Inmunocomplejos Circulantes.

Cáceres 12 de Enero de 2010