



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Utilitat diagnòstica dels leucòcits marcats amb Tecneci-99m en la pràctica diària hospitalària

Bernardo Soriano Borrás

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



Facultat de Farmàcia
RECERCA, DESENVOLUPAMENT I CONTROL DE MEDICAMENTS

Utilitat diagnòstica dels leucòcits marcats amb
Tecneci-99m en la pràctica diària hospitalària

Bernardo Soriano Borrás
2015



Facultat de Farmàcia
RECERCA, DESENVOLUPAMENT I CONTROL DE MEDICAMENTS

Utilitat diagnòstica dels leucòcits marcats amb Tecneci-99m en la pràctica diària hospitalària

Tesi per optar al Grau de Doctor en Farmàcia

Per
Bernardo Soriano Borrás

Directors de la Tesi

Eduardo Luis Mariño Hernández
Unitat de Farmàcia Clínica i Farmacoteràpia
Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica

Joan Castell Conesa
Servei de Medicina Nuclear
Hospital Universitari Vall d'Hebron

Barcelona
2015



Facultat de Farmàcia
RECERCA, DESENVOLUPAMENT I CONTROL DE MEDICAMENTS

Utilitat diagnòstica dels leucòcits marcats amb Tecneci-99m en la pràctica diària hospitalària

Memòria presentada per Bernardo Soriano Borrás per optar al títol de doctor
per la Universitat de Barcelona

Els Directors de la Tesi:

Dr. Eduardo Luis Mariño Hernández

Dr. Joan Castell Conesa

El Tutor de la Tesi:

El Doctorand:

Dr. Eduardo Luis Mariño Hernández

Bernardo Soriano Borrás

Bernardo Soriano Borrás
2015

als patients

AGRAÏMENTS

A tot l'equip professional
de la Unitat de Radiofarmàcia
i del Servei de Medicina Nuclear

A la unitat de Fenotipatge

Al Guille pel seu suport i ajut

Al Martí pel seu ajut informàtic

FIGURES

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Figura 1. Imatge gammagrafia positiva colitis ulcerosa activa | Pàg. 11 |
| Figura 2. Imatge gammagrafia positiva pròtesi vascular..... | Pàg. 12 |
| Figura 3. Imatge gammagràfica negativa sospita de malaltia de febre d'origen desconegut..... | Pàg. 13 |
| Figura 4. Imatge gammagràfica positiva pròtesi del genoll, estudiat amb ^{99m} Tc-DPD i leucòcits marcats amb ^{99m} Tc-HMPAO. | Pàg. 14 |
| Figura 5. Imatge gammagràfica negativa d'infecció de pròtesi de genoll..... | Pàg. 28 |
| Figura 6. Utiltatge que conforma un Citòmetre 5500. | Pàg. 39 |
| Figura 7. Esquema funcionament del citòmetre. | Pàg. 40 |
| Figura 8. Anàlisi de la mostra per la combinació gràfica de dos dels detectors emprats (dot/plot)..... | Pàg. 41 |
| Figura 9. Exemple de dot/plot per al càlcul percentatges | Pàg. 42 |
| Figura 10. Exemple de dot/plot per a càlcul absolut..... | Pàg. 42 |
| Figura 11. Estudi de la selectivitat de les hematies en 10 mostres verificada per gating al dot/plot en el seu marcador específic GFA | Pàg. 45 |
| Figura 12. Estudi de la selectivitat de les plaquetes en 10 mostres verificada per el seu marcador específic CD61 | Pàg. 45 |
| Figura 13 . Exemple de dot/plot per analitzar l'hemograma de la dosi. | Pàg. 48 |
| Figura 14. Exemple gating practicat sobre la població dels leucòcits per al seu posterior anàlisi..... | Pàg. 49 |
| Figura 15. Exemple dot/plot utilitzat per la viabilitat leucocitària | Pàg. 50 |
| Figura 16. Esquema obtenció del fraccionament i comptatge dels components marcats a la dosi..... | Pàg. 52 |
| Figura 17. Esquema del procediment puresa ^{99m} Tc-HMPAO | Pàg. 53 |
| Figura 18. Gammacàmera Siemens Cap de doble capçal | Pàg. 55 |
| Figura 19. Àrea ROI damunt la cresta ilíaca, vasos i parts toves | Pàg. 56 |
| Figura 20. Àrea ROI damunt el fèmur, vasos i parts toves | Pàg. 57 |
| Figura 21. Selectivitat avaluada | Pàg. 63 |

- Figura 22. Representació gràfica dels valors CV obtinguts a la repetibilitat... Pàg. 68
- Figura 23. Representació gràfica de la viabilitat leucocitària Pàg. 68
- Figura 24. Coeficients de variació de la reproductibilitat Pàg. 71
- Figura 25. Hemograma de la dosi, segon els resultat positiu (P) o negatiu (N) de la gammagrafia Pàg. 73
- Figura 26. Rendiments del marcatges, la viabilitat cel·lular i les poblacions leucocitàries segon gammagrafia positiva o negativa Pàg. 74
- Figura 27. Box/plot de les dades obtingudes per al Grup I, en la verificació de les dades de l'hemograma de la dosi, segons l'encert diagnòstic..... Pàg. 79
- Figura 28. Box/plot dels percentatges de les poblacions leucocitàries, el rendiment de marcatge i la viabilitat cel·lular segons encert diagnòstic..... Pàg. 79
- Figura 29. Percentatges de la distribució del ^{99m}Tc en els components de la dosi i de la puresa del ^{99m}Tc -HMPAO segon gammagrafia positiva o negativa..... Pàg. 81
- Figura 30. Box/plot respecte als percentatges obtinguts de les variables estudiades al grup II segon clínica veritable o falsa Pàg. 85
- Figura 31. Box/plot dels índexs de localització a l'abdomen (subgrups III A) i als genolls (subgrup III B) segons gammagrafia positiva o negativa..... Pàg. 88
- Figura 32. Box/plot índexs grup III segons diagnòstic clínic final..... Pàg. 94
- Figura 33. Comparativa dels valors p de les variables cel·lulars segons els criteris clínics i gammagràfics en el grup I..... Pàg. 97
- Figura 34. Comparativa dels valors p de les poblacions leucocitàries i viabilitat segons els criteris clínics/gammagràfics en el grup I..... Pàg. 98
- Figura 35. Comparativa dels valors de p al grup II Pàg. 99
- Figura 36. Comparativa gràfica dels valors de p en el grup IIIA Pàg. 100
- Figura 37. Comparativa gràfica dels valors de p clínic/gammagràfic obtinguts per al subgrup IIIB..... Pàg. 101
- Figura 38. Captacions de diferent intensitat segons els tipus d'ossos presents a la zona detectada Pàg. 114
- Figura 39. Imatges anteriors i planars de l'abdomen i genolls del mateix pacient, contrastades amb una imatge hemicorporal del mateix pacient Pàg. 132

TAULES

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Taula 1. Tècniques diagnòstiques in vitro en processos inflamatoris i infecciosos a l'abast del clínic | Pàg. 4 |
| Taula 2. Tècniques diagnòstiques in vivo en processos inflamatoris i infecciosos a l'abast del clínic | Pàg. 5 |
| Taula 3. Diferents radiofàrmacs emprats en el diagnòstic de la infecció | Pàg. 7 |
| Taula 4. Localització anatòmica de les patologies dels pacients estudiats amb ^{99m} Tc-HMPAO-leucòcits | Pàg. 36 |
| Taula 5. Quantificació a les àrees de les hematies i plaquetes en el dot/plot emprant la detecció de CD45 i la seva verificació de la mateixa àrea en el seu marcador específic..... | Pàg. 64 |
| Taula 6. Hemograma de la dosi, calculat en cèl·lules absolutes | Pàg. 65 |
| Taula 7. Hemograma de la dosi, expressat en percentatges..... | Pàg. 65 |
| Taula 8. Poblacions leucocitàries presents a la dosi expressades en cèl·lules absolutes | Pàg. 66 |
| Taula 9. Poblacions leucocitàries a les dosis expressades en percentatges. | Pàg. 66 |
| Taula 10. Resultats de la viabilitat leucocitària..... | Pàg. 67 |
| Taula 11. Repetibilitat de la mostra analitzada..... | Pàg. 67 |
| Taula 12. CV obtinguts en 21 mostra per al càlcul de la reproductibilitat..... | Pàg. 69 |
| Taula 13. Precisió de la reproductibilitat..... | Pàg. 70 |
| Taula 14. Dades comparativa de les variables (mediana i percentils Q1 i Q3) segons el resultat de la gammagrafia en 87 estudis del Grup I..... | Pàg. 72 |
| Taula 15. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic al Grup I | Pàg. 75 |
| Taula 16. Dades descriptives de les variables de l'hemograma de la dosi | Pàg. 76 |
| Taula 17. Percentatges de les poblacions leucocitàries presents..... | Pàg. 77 |
| Taula 18. Dades descriptives de la viabilitat leucocitària segons tipus d'encert diagnòstic. | Pàg.77 |
| Taula 19. Dades comparatives en 87 estudis de les variables segons el patró veritable (positius i negatius) i el fals (positius i negatius) | Pàg. 78 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Taula 20. Dades comparatives en 101 estudis de les variables segons el resultat de la gammagrafia | Pàg. 80 |
| Taula 21. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic al grup II | Pàg. 82 |
| Taula 22. Dades descriptives segon resultat clínic del grup II | Pàg. 83 |
| Taula 23. Dades de la puresa radioquímica del ^{99m} Tc-HMPAO | Pàg. 83 |
| Taula 24. Dades comparatives de les variables en 101 estudis | Pàg. 84 |
| Taula 25. Localització de l'activitat de les dosis a l'abdomen | Pàg. 86 |
| Taula 26. Localització de l'activitat de la dosi als genolls dels pacients..... | Pàg. 87 |
| Taula 27. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic al subgrup IIIA | Pàg. 89 |
| Taula 28. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic al subgrup IIIB | Pàg. 90 |
| Taula 29. Dades descriptives segons l'encert diagnòstic al subgrup IIIA..... | Pàg. 91 |
| Taula 30. Dades descriptives segons l'encert diagnòstic al subgrup IIIB..... | Pàg. 92 |
| Taula 31. Localització abdominal de la dosi de ^{99m} Tc-HMPAO leucòcits..... | Pàg. 93 |
| Taula 32. Localització als genolls de la dosi de ^{99m} Tc-HMPAO leucòcits en 48 estudis | Pàg. 94 |
| Taula 33. Encert diagnòstic dels leucòcits marcats amb ^{99m} Tc-HMPAO en els grups estudiats | Pàg. 95 |
| Taula 34. Efectivitat diagnòstica i concordança dels leucòcits marcats amb ^{99m} Tc-HMPAO en els grups estudiats..... | Pàg. 96 |
| Taula 35. Dades descriptives dels valors p obtinguts segons els criteris diagnòstics establerts al grup I..... | Pàg. 97 |
| Taula 36. Dades descriptives dels valors p obtinguts segons els criteris diagnòstics establerts al grup II..... | Pàg. 98 |
| Taula 37. Dades descriptives dels valors p obtinguts segons els criteris diagnòstics establerts al subgrup IIIA..... | Pàg. 99 |
| Taula 38. Dades descriptives dels valors p obtinguts segons els criteris diagnòstics establerts al subgrup IIIB..... | Pàg. 100 |

ABREVIACIONES

| | |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| μCi | Submúltiple del Curie. Unitat de mesura de l'activitat de la dosi |
| μl | Submúltiple del litre. Unitat de mesura de volum |
| ^{18}F | Isòtop radioactiu del Fluor i de 18 de pes molecular |
| ^{67}Ga | Isòtop radioactiu del Gal·li i de 67 de pes molecular |
| ^{99}Mo | Isòtop radioactiu del Molibdè i de 99 de pes molecular |
| ^{99}Tc | Isòtop radioactiu del Tecneci i de pes molecular de 99, sense ús clínic a Medicina Nuclear i que participa com impuresa deguda al decaïment radioactiu del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ |
| $^{99\text{m}}\text{Tc}$ | Isòtop radioactiu metastable del Tecneci i de pes molecular de 99, emprat a Medicina Nuclear amb fins diagnòstics |
| $^{99\text{m}}\text{Tc-DPD}$ | Radiofàrmac del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ marcant DPD |
| $^{18}\text{F-FDG}$ | Radiofàrmac del ^{18}F marcant Fluordesoxiglucosa |
| $^{99\text{m}}\text{Tc-HMPAO}$ | Radiofàrmac del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ marcant HMPAO |
| ^{111}In | Isòtop radioactiu de l'Indi i de 111 de pes molecular |
| ACD-A | Àcid Citrat Dextrosa formula A |
| Box/plot | Representació estadística dels resultats en gràfiques del valors màxim, mínims i quartils obtinguts |
| CD235a | Anticòs identificador de les hematies, emprat en la citometria de flux |
| CD45 | Anticòs comú dels leucòcits, emprat en la citometria de flux |
| CD61 | Anticòs identificador de les plaquetes, emprat en la citometria de flux |
| CFM | Citometria de Flux Multiparamètrica |
| CV | Coeficient de Variació, expressió matemàtica emprada en els resultats |

| | |
|----------|---------------------------------------------------------------------------|
| EANM | European Association Nuclear Medecine |
| Dot/plot | Representació gràfica biparamètrica |
| DPD | 3,3-diphosphono-1,2-propanodicarboxylicacid Dicarbonat propadifosfonat |
| FDG | Fluordesoxiglucosa |
| FN | Falsos Negatius |
| FP | Falsos Positius |
| HES | Hidroximetilcel·lulosa |
| K-S | Prova de Kolmorov-Smirnov |
| KeV | Submúltiple de la unitat de mesura del Volti (V) |
| HMPAO | Hidroximetilparaminoxima o exametazina |
| ICC | Coefficient de Correlació Intraclasse |
| Li | Límit inferior de la mostra |
| Ls | Límit superior de la mostra |
| MBq | Múltiple del Bequerel. Unitat de mesura de l'activitat de la dosi |
| mSv | Mil·lèsima del Sievert (Sv) Unitat mesura del risc radioactiu |
| N | Valors negatius dels resultats gammagràfics obtinguts |
| PET | Positron Emission Tomography |
| P | Valors positius dels resultats gammagràfics obtinguts |
| Q1 | Primer quartil |
| Q2 | Segon quartil o mediana |
| Q3 | Tercer quartil |

| | |
|-------|--------------------------------------------|
| ROI | Regió d'Interès |
| RV(-) | Raó de Versemblança Negativa |
| RV(+) | Raó de Versemblança Positiva |
| SD | Desviació Típica |
| SFM | Sistema Fagocític Mononuclear |
| SPECT | Single-Photon Emission Computed Tomography |
| SPET | Single Photon Emission Tomography |
| TC | Tomografia Computeritzada |
| TAC | Tomografia Axial Computeritzada |
| VN | Veritables Negatius |
| VP | Veritables Positius |
| VPN | Valor Predictiu Negatiu |
| VPP | Valor Predictiu Positiu |

RESUM

Introducció

El rendiment diagnòstic dels leucòcits marcats amb ^{99m}Tc recau, en bona part, en la qualitat del procediment de marcatge i d'obtenció de les imatges. Els controls habitualment establerts no justifiquen, per si sols, la variabilitat dels resultats obtinguts.

Objectiu

Verificar a la pràctica diària, els components de la dosi, el seu marcatge i el seu funcionalisme dins del pacient amb nous controls mitjançant metodologies a l'abast del centre, amb mínima pèrdua de la dosi i sense contravenir les normatives en radioprotecció establertes ni perllongar l'estada del pacient.

Metodologia

Estudi prospectiu, observacional en 320 pacients (159 dones; edat $63,2 \pm 23,1$ anys) amb malalties inflamatòries i infeccioses diagnosticats mitjançant els seus leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO i que han configurat tres grups de controls diferents. El primer grup ($n=87$) per a la determinació de l'hemograma i viabilitat cel·lular amb una nova aplicació de la citometria de flux. El grup II ($n=101$) per verificar la distribució del ^{99m}Tc entre els components de dosi per separació per gradients i al grup III ($n=132$) localització de la dosi als ossos, vasos i parts toves per determinar el funcionalisme de la dosi administrada. Els resultats s'han agrupat segons el resultat de la gammagrafia i per seguiment clínic de 2 anys.

Resultats

No han existit diferències significatives per a la majoria de les variables estudiades. En el Grup I es va evidenciar significació en el rendiment del marcatge ($p=0,018$), cèl·lules totals ($p=0,048$) i plaquetes ($p=0,035$) entre les variables estudiades agrupades segons la taxa de resultats veritables/falsos. Significatius, també en el tercer grup en la captació dels ossos respecte a les parts toves ($p<0,001$) quan les variables es van agrupar per estudi positiu o negatiu. El mètode va ser poc fiable per diferenciar els neutròfils de les hematies marcades. L'efectivitat clínica global va ser del 86,2%, amb un índex Kappa de 76%, 66,7% i 73 % per a cada grup.

Conclusions

Els controls establerts van permetre verificar la qualitat del procediment establert per a la majoria de les variables i van permetre identificar les causes de desviament metodològic en l'òptima obtenció dels leucòcits. Es va poder objectivar, la biodistribució "in vivo" de les cèl·lules marcades com indicador de qualitat, tot i que el mètode no va aconseguir controlar de forma precisa la contaminació de les hematies marcades en la dosi administrada.

TAULA DE CONTINGUTS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 1. INTRODUCCIÓ | 1 |
| 1.1. Tècniques diagnòstiques..... | 4 |
| 1.2. Exploracions diagnòstiques a Medicina Nuclear | 6 |
| 1.2.1. Radiofàrmacs emprats en processos inflamatoris i infecciosos | 7 |
| 1.2.2. Leucòcits marcats amb radionúclids | 8 |
| 1.2.3. Leucòcits marcats amb ^{99m} Tc-HMPAO..... | 9 |
| 1.3. Patologies objecte d'estudis amb ^{99m} Tc-HMPAO-leucòcits | 10 |
| 1.3.1. Patologies inflamatòries al budell..... | 10 |
| 1.3.2. Patologies infeccioses localitzades als vasos sanguinis | 11 |
| 1.3.3. Patologies infeccioses difícilment localitzables | 12 |
| 1.3.4. Patologies Infeccioses als ossos..... | 13 |
| 1.4. Plantejament del problema | 15 |
| 1.4.1. Del procediment de marcatge dels leucòcits..... | 16 |
| 1.4.1.1. Obtenció de la mostra de sang | 16 |
| 1.4.1.2. Aïllament del plasma lliure de cèl·lules | 17 |
| 1.4.1.3. Aïllament dels leucòcits..... | 17 |
| 1.4.1.4. Marcatge dels leucòcits amb ^{99m} Tc-HMPAO..... | 18 |
| 1.4.1.5. Purificació del marcatge..... | 19 |
| 1.4.1.6. Preparació de la dosi | 20 |
| 1.4.2. Dels controls de qualitat del procediment | 20 |
| 1.4.2.1. Controls rutinaris | 20 |
| 1.4.2.1.1. Rendiment del marcatge..... | 20 |
| 1.4.2.1.2. Inspecció visual..... | 21 |
| 1.4.2.2. Controls periòdics | 21 |
| 1.4.2.2.1. Esterilitat | 21 |
| 1.4.2.2.2. Viabilitat cel·lular..... | 22 |
| 1.4.2.2.3. Recuperació cel·lular | 22 |
| 1.4.2.2.4. Elució del ^{99m} Tc..... | 22 |
| 1.4.2.2.5. Captació pulmonar | 23 |
| 1.4.2.2.6. Relació activitat fetge i melsa | 23 |
| 1.4.3. Del procediment a la Medicina Nuclear..... | 23 |
| 1.4.3.1. Obtenció d'imatges gammagràfiques..... | 24 |
| 1.4.3.2. Estratègies diagnòstiques | 24 |
| 1.4.3.3. Patologies i situació clínica del pacient | 25 |
| 1.5. Situació real o definició del problema | 25 |

| | |
|------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2. HIPÒTESIS I OBJECTIUS | 29 |
| 2.1. Hipòtesis de Treball..... | 31 |
| 2.2. Objectius | 31 |
| 2.2.1. Principal | 31 |
| 2.2.2. Secundaris..... | 31 |
| 3. METODOLOGIA | 33 |
| 3.1. Tipus d'estudi | 35 |
| 3.2. Àmbit de l'estudi | 35 |
| 3.3. Població de l'estudi | 35 |
| 3.4. Període de l'estudi..... | 37 |
| 3.5. Font de les dades..... | 37 |
| 3.6. Variables analitzades | 38 |
| 3.7. Procediments realitzats previs a l'estudi | 39 |
| 3.7.1. Fonaments de la citometria de flux multiparamètrica | 39 |
| 3.7.1.1. Validació de la nova aplicació | 43 |
| 3.7.1.1.1. Població per a la validació | 43 |
| 3.7.1.1.2. Procediments realitzats..... | 44 |
| 3.7.1.1.2.1. Selectivitat | 44 |
| 3.7.1.1.2.2. Precisió..... | 45 |
| 3.7.1.1.2.2.1. Repetibilitat..... | 46 |
| 3.7.1.1.2.2.2. Reproductibilitat..... | 46 |
| 3.7.1.1.3. Tractament estadístic de les dades validació | 46 |
| 3.8. Procediments propis de l'estudi | 46 |
| 3.8.1. Grup I..... | 47 |
| 3.8.1.1. Població estudi grup I | 47 |
| 3.8.1.2. Hemograma complet i la viabilitat leucocitària | 47 |
| 3.8.2. Grup II..... | 50 |
| 3.8.2.1. Població estudi grup II | 51 |
| 3.8.2.2. Distribució de l'activitat radioactiva a la dosi | 51 |
| 3.8.2.3. Puresa del radiofàrmac ^{99m} Tc-HMPAO | 52 |
| 3.8.3. Grup III..... | 53 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.8.3.1. Població estudi grup III | 53 |
| 3.8.3.1.1. Població estudi subgrup IIIA..... | 54 |
| 3.8.3.1.2. Població estudi subgrup IIIB..... | 54 |
| 3.8.3.2. Procediment realitzat al grup III | 54 |
| 3.8.3.2.1. Detecció abdominal | 55 |
| 3.8.3.2.2. Detecció als genolls..... | 57 |
| 3.8.4. Grup Global..... | 58 |
| 3.9. Tractament de les dades..... | 58 |
| 3.10. Interpretació dels resultats | 59 |
| 4. RESULTATS..... | 61 |
| 4.1. Validació nova aplicació citometria de flux..... | 63 |
| 4.1.1. Selectivitat..... | 63 |
| 4.1.2. Precisió | 64 |
| 4.1.2.1. Repetibilitat | 64 |
| 4.1.2.2. Reproductibilitat | 69 |
| 4.2. Utilitat de l'estratègia de qualitat instaurada..... | 71 |
| 4.2.1. Grup I. Hemograma i viabilitat leucocitària..... | 72 |
| 4.2.1.1. Dades comparatives segons diagnòstic gammagràfic..... | 72 |
| 4.2.1.2. Dades diagnòstic clínic | 74 |
| 4.2.1.3. Dades descriptives..... | 75 |
| 4.2.1.4. Dades comparatives segons clínica..... | 78 |
| 4.2.2. Grup II. Distribució components marcats de la dosi i puresa del ^{99m} Tc-HMPAO | 80 |
| 4.2.2.1. Dades comparatives segons diagnòstic gammagràfic..... | 80 |
| 4.2.2.2. Dades diagnòstic clínic | 81 |
| 4.2.2.3. Dades descriptives..... | 82 |
| 4.2.2.4. Dades comparatives segons clínica..... | 84 |
| 4.2.3. Grup III. Imatges gammagràfiques..... | 85 |
| 4.2.3.1. Dades comparatives segons diagnòstic gammagràfic..... | 85 |
| 4.2.3.1.1. Detecció abdominal | 86 |
| 4.2.3.1.2. Detecció als genolls..... | 87 |
| 4.2.3.2. Dades diagnòstic clínic | 88 |
| 4.2.3.2.1. Abdomen Subgrup IIIA | 88 |
| 4.2.3.2.2. Genolls. Subgrup IIIB..... | 89 |
| 4.2.3.3. Dades descriptives..... | 90 |
| 4.2.3.3.1. Abdomen. Subgrup IIIA | 91 |
| 4.2.3.3.2. Genolls. Subgrup IIIB..... | 91 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.2.3.4. Dades comparatives segons clínica..... | 92 |
| 4.2.3.4.1. Abdomen. Subgrup IIIA | 92 |
| 4.2.3.4.2. Genolls. Subgrup IIIB..... | 93 |
| 4.2.4. Grup Global. Aportacions finals | 95 |
| 5. DISCUSSIÓ..... | 103 |
| 5.1. Objectiu principal. Utilitat de l'estratègia de qualitat instaurada | 105 |
| 5.1.1. Determinacions al grup I | 107 |
| 5.1.1.1. De la determinació de l'hemograma | 107 |
| 5.1.1.2. De la viabilitat leucocitària | 109 |
| 5.1.2. Determinacions al grup II | 109 |
| 5.1.2.1. De la distribució del ^{99m}Tc a la dosi..... | 109 |
| 5.1.2.2. De la puresa del precursor $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ | 111 |
| 5.1.3. Determinacions al grup III | 111 |
| 5.1.3.1. De la localització de la dosi a l'abdomen | 112 |
| 5.1.3.2. De la localització de la dosi als genolls..... | 113 |
| 5.1.4. Utilitat global de l'estudi | 115 |
| 5.2. Objectius secundaris. Utilitat de la metodologia aplicada..... | 118 |
| 5.2.1. Determinacions al grup I | 118 |
| 5.2.1.1. Citometria de flux multiparamètrica..... | 118 |
| 5.2.1.1.1. A l'hemograma | 119 |
| 5.2.1.1.2. A la viabilitat | 120 |
| 5.2.2. Determinacions al grup II | 120 |
| 5.2.2.1. Separació per densitats | 120 |
| 5.2.2.2. Separació isòmers $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ | 120 |
| 5.2.3. Determinacions al grup III | 121 |
| 5.2.3.1. Imatges gammagràfiques | 121 |
| 5.2.3.1.1. A l'abdomen..... | 121 |
| 5.2.3.1.2. Als genolls | 122 |
| 5.2.4. Global de la metodologia de l'estudi | 122 |
| 5.3. Aplicació pràctica | 124 |
| 5.3.1. Transcendència pràctica | 124 |
| 5.3.2. Mostres radioactives | 125 |
| 5.3.3. Pèrdua de la dosi | 125 |
| 5.3.4. Factor temps | 126 |
| 5.3.5. Lliurament dels resultats | 126 |

| | |
|------------------------------------------------------|------------|
| 5.4. Limitacions | 126 |
| 5.4.1. Mostra estudiada..... | 128 |
| 5.4.2. Rigor metodològic | 128 |
| 5.4.3. Control sobre l'operador..... | 128 |
| 5.4.4. Cost econòmic i en recursos | 129 |
| 5.5. Principals aportacions | 129 |
| 5.5.1. Pràctica diària | 129 |
| 5.5.2. Abans de protocol·litzar | 130 |
| 5.5.3. Avaluar desviacions metodològiques | 130 |
| 5.5.4. Avaluació procediments | 130 |
| 5.5.5. Aportar dades no verificables..... | 130 |
| 5.6. Implicacions per a la investigació futura..... | 131 |
| 5.6.1. Metodologia exportable a nous marcatges | 132 |
| 6. CONCLUSIONS | 133 |
| 6.1. A l'objectiu principal..... | 135 |
| 6.2. Als objectius secundaris..... | 136 |
| 7. BIBLIOGRAFIA | 137 |
| 8. ANNEX: APORTACIONS A CONGRESSOS | 149 |

Els processos inflamatoris i infecciosos, originen una lògica demanda d'assistència per restaurar la salut del pacient. Aquest processos poden cursar de forma rellevant i aguda o transcórrer de forma silent amb una simptomatologia romanent de dolor i discapacitat funcional que origina reiterades consultes del pacient al seu metge ¹.

Establir l'existència real de la malaltia i el seu diagnòstic diferencial amb altres símptomes similars, permet instaurar un tractament específic, efectiu i sense demora per evitar-ne la seva extensió i/o esdevenir crònica ². L'estratègia per avaluar la situació clínica del pacient, radica en establir l'etiologia causant i evidenciar la localització, extensió i grau d'activitat de la seva patologia ³.

Els recursos diagnòstics a l'abast del clínic, per obtenir una informació objectiva i immediata, solen ésser els més emprats en aquesta finalitat i molt més aquells que siguin fiables, ràpids i incruents pel malalt. Una de les exploracions més sol·licitades a Medicina Nuclear, en aquesta tessitura, són els estudis diagnòstics amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO ⁴.

El tema central de l'estudi que es presenta es basa en la controvèrsia de las limitacions inherents de la prova diagnòstica en la seva efectivitat diagnòstica i que són atribuïbles a un gran ventall de factors, des de la complexitat del procediment del marcatge dels leucòcits, a la seva detecció, així com d'altres que recauen en la pròpia evolució clínica del pacient ⁵.

Per abordar el tema, en primer lloc, es descriuen les eines més emprades en establir el diagnòstic de la malaltia per part del clínic, com introducció al paper actual de la Medicina Nuclear en la utilitat diagnòstica d'aquesta especialitat en l'estudi de les patologies inflamatòries i infeccioses i en concret la seva aplicació en les exploracions realitzades amb ^{99m}Tc-HMPAO-leucòcits, per finalment plantejar la problemàtica i situació actual que ha dut realitzar aquesta tesi.

1.1. Tècniques diagnòstiques més usals emprades en les patologies inflamatòries i infeccioses a l'abast del clínic

Calen esmentar aquí, les eines que formen el ventall de recursos diagnòstics a partir d'una mostra del pacient en tècniques analítiques in vitro (Taula 1).

Taula 1. Tècniques diagnòstiques in vitro a partir d'una mostra obtinguda del pacient, emprades en l'estudi de processos inflamatoris i infecciosos a l'abast del clínic.

| Tècniques in vitro | Fonaments |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VSG | Velocitat de la separació entre plasma i cèl·lules sanguínies |
| Hemograma | Recompte de leucòcits i de poblacions leucocitàries |
| Proteïna C reactiva | Increment |
| Cultius | Sembra de la mostra de fluids orgànics per obtenir per creixement i diagnòstic l'agent patogen. |
| Anatomia patològica | Tinció específica en teixits |

Les dades analítiques més utilitzades van des dels controls sanguinis, sobre tot del nombre de leucòcits i desviacions entre les seves diferents poblacions ⁶, fins als cultius per aïllar els agents patògens en els diversos fluids o teixits corporals del pacient ⁷. Les variacions de l'hemograma, tenen la particularitat de ser molt sensibles segons l'evolució de la malaltia, mentre que els cultius són molt específics per identificar l'agent causant ⁸. En tots dos casos, cap d'ells no poden establir la seva localització i extensió de la patologia dins el pacient. En aquest context, les tècniques diagnòstiques més específiques són els cultius bacteriològics o les de l'anatomia patològica del teixit afectat, però requereixen una intervenció cruenta pel pacient i generalment només es realitzen aprofitant la intervenció quirúrgica ⁹.

Les exploracions diagnòstiques per a la imatge que són aplicades directament al pacient es detallen a la taula 2.

Taula 2. Tècniques diagnòstiques in vivo directament emprades al pacient en l'estudi de processos inflamatoris i infecciosos a l'abast del clínic.

| Tècniques in vivo | Utilitat |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Raigs X convencional | Obtenció d'imatges planars de les estructures internes. Cal realitzar diferents projeccions. |
| Raigs X TAC | Obtenció d'imatges volumètriques en diferents projeccions. Processament en imatges seqüencials planars amb millor sensibilitat i resolució espacial. |
| Ecografia | Imatges planars ecoiques als ultrasons. |
| Ressonància magnètica | Obtenció de les imatges en processaments seqüencials amb alta sensibilitat i resolució espacial. |
| Medicina Nuclear convencional | Obtenció d'imatges d'estructures i funcionalisme intern en projeccions planars. |
| Medicina Nuclear + TC | Obtenció d'imatges volumètriques en diferents projeccions. Processament en imatges seqüencials planars amb millor sensibilitat i resolució espacial. Comparativa amb les imatges del TC millora la resolució d'imatges en Medicina Nuclear. |

Les proves diagnòstiques per la imatge (raigs X, ecografia, TAC, ressonància magnètica i gammagrafies) són proves incruentes que permeten localitzar àrees patològiques amb un risc molt baix pel detriment ¹⁰ de la salut del pacient. La seva utilització en benefici d'una o de l'altre exploració recau en la disponibilitat, efectivitat i cost dins els recursos de cada centre.

La placa de raig X és el recurs incruent de diagnòstic més accessible i de baix cost que permet objectivar, sobretot en els casos de les pròtesis implantades als

ossos si s'ha trencat o bé, si s'ha desplaçat de la seva implantació, però no pot establir amb certesa l'existència d'infecció ¹¹.

La Tomografia axial computeritzada (TAC) és un sistema de detecció que ha millorat la sensibilitat dels raigs X en obtenir imatges de gran resolució de volums corporals en múltiples talls seqüencials i espacials, però cal una interpretació molt especialitzada per diferenciar les diferents masses corporals (teixit muscular i vasos de les col·leccions purulentes ¹².

L'ecografia, també ha estat utilitzada sobretot per interpretar localitzacions en òrgans ecogràfics amb resultats diversos ¹³.

1.2. Exploracions diagnòstiques a Medicina Nuclear

El fonament diagnòstic de la Medicina Nuclear es basa en la detecció externa dels raigs gamma emesos per el radionúclid que marca el radiofàrmac administrat al pacient ¹⁴. Les característiques de la radiació gamma del radionúclid emissor i els equips per a la seva detecció conformen la sensibilitat del sistema i l'estructura química del radiofàrmac que incorpora aquest radionúclid conforma el principi actiu administrat, responsable de la especificitat de la exploració diagnòstica ¹⁵.

Per aquest sistema es pot realitzar de manera incruenta una observació de la distribució, metabolisme i excreció de la dosi administrada i obtenir imatges gammagràfiques de la morfologia, localització, grandària i funcionalisme de l'òrgan i/o sistema a on es localitza el radiofàrmac. Aquesta qualitat de Medicina Nuclear, és el principal avantatge que la fa diferenciar de les altres tècniques diagnòstiques per a la imatge ¹⁶. L'únic risc potencial pels pacients seria el degut als efectes de la radiació ionitzant emesa pel radiofàrmac, però en general, els estudis gammagràfics dels radiofàrmacs estan per sota d'una dosi efectiva de 20 mSv, que és el límit màxim anual tolerat per a les persones professionalment exposades ¹⁷.

1.2.1. Radiofàrmacs emprats en els estudis de localització de processos inflamatoris i infecciosos a Medicina Nuclear

L'aplicació dels radiofàrmacs amb fins diagnòstics per establir els processos inflamatoris i infecciosos es vénen utilitzant a Medicina Nuclear com a eines de valor pronòstic predictiu, incruentes i de baix risc pel pacient ¹⁸.

A l'àmbit de l'estudi gammagràfic per avaluar l'existència de infecció s'han utilitzat diferents radiofàrmacs, marcats per diferents radionúclids (Taula 3).

Taula 3. Diferents radiofàrmacs emprats en el diagnòstic de la infecció.

| Radionúclid | Radiofàrmac |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ⁶⁷ Ga | Citrat de Gal·li (⁶⁷ Ga) |
| ¹¹¹ In | Immunoglobulina G Leucòcits marcats amb ¹¹¹ In-oxina |
| ^{99m} Tc | Leucòcits marcats amb ^{99m} Tc-HMPAO Anticossos antigranulòcits marcats amb ^{99m} Tc Antibiòtics marcats amb ^{99m} Tc Col·loides marcats amb ^{99m} Tc |
| ¹⁸ F | FDG |

El citrat de gal·li (⁶⁷Ga) és el més antic dels radiofàrmacs emprats amb aquest fi, és per això que representa una major radiació al pacient, més temps de detecció i una sensibilitat i especificitat més baixa que la resta ¹⁹.

Les variants metodològiques amb Indi (¹¹¹In), com la immunoglobulina G i els leucòcits marcats ²⁰, comporten una tècnica laboriosa de marcatge, menys radiació que el gal·li però més que si s'utilitza el ^{99m}Tc.

Entre els altres preparats de tecneci, el nanocol·loïd ²¹ presenta una menor evidència científica en la localització d'infeccions que la resta, al no ser específic d'infecció.

Els anticossos antigranulòcits marcats amb ^{99m}Tc ²², semblava que desbancarien l'ús dels leucòcits marcats, però no ha estat així. El motiu principal ha estat per donar més falsos positius i, a part, pel fet de poder sensibilitzar el pacient a les proteïnes del ratolí ja que s'obté a partir d'anticossos monoclonals d'origen murí. Un nou radiofàrmac comercialitzat amb un anticòs més específic està essent actualment el més emprat, encara que segueix restrictiu el seu ús de forma reiterativa per la problemàtica de la sensibilització als anticossos murins ²³. Els més emprats han estat els preparats comercialitzats granuloscint ²⁴ i leukoscan ²⁵.

El marcatge de l'antibiòtic ciprofloxacina amb ^{99m}Tc ²⁶ que, a priori, superaria la problemàtica de la manipulació del marcatge del leucòcits es trobava en fase d'investigació clínica i davant d'uns resultats dispars no ha arribat a la seva comercialització. Finalment, el ^{18}F , marcant la fluordesoxiglucosa (FDG), ha estat emprat també en la recerca de les infeccions amb motiu de la major sensibilitat en la detecció que aporta aquest radionúclid emissor de positrons ²⁷.

1.2.2. Leucòcits marcats amb radionúclids

Els leucòcits marcats amb radionúclids deuen la seva sensibilitat al radionúclid que els marca i la seva especificitat a la localització dels leucòcits en les zones patològiques objecte de l'estudi ²⁸.

L'estratègia de l'exploració es basa en aprofitar la localització dels leucòcits al lloc on hi ha el procés inflamatori i/o infeccions. En raó d'aquesta característica fisiopatològica es marquen els propis leucòcits del pacient amb un radionúclid emissor de radiació gamma, i es readministren de nou amb la finalitat que s'acumulin al lloc patològic i detectar-los gammagràficament.

La implantació de la metodologia del marcatge del leucòcits es va descriure per McAfee i Takur ²⁹ i la seva aplicació assistencial a Medicina Nuclear es va establir seguint les recomanacions de les metodologies promulgades ³⁰ per experts. Diversos radionúclids han estat emprats amb aquest fi formant part de diversos

complexos químics que faciliten el seu marcatge als leucòcits. El primer radionúclid usat va ser el ^{111}In formant complexos amb la oxima i la tropolona ³¹. La seva aplicació va decaure a favor del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ que presenta més sensibilitat a la detecció i una menor radiació al pacient ³². Actualment es comencen a utilitzar radionúclids emissors de positrons com el ^{18}F per el marcatge dels leucòcits ja que aquests tipus de radionúclids permeten obtenir una major sensibilitat i resolució en la detecció gammagrafia ³³.

1.2.3. Leucòcits marcats amb $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMPAO

De tot el ventall exposat, el marcatge dels leucòcits marcats amb $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ha estat la tècnica més utilitzada a la Unitat de Radiofarmàcia, per al seguiment i avaluació dels processos inflamatoris i infecciosos segons el protocol d'estudi establert al Servei de Medicina Nuclear ³⁴.

Les característiques físico-químiques del $^{99\text{m}}\text{Tc}$, l'han fet un dels millors radionúclids per a la seva aplicació a Medicina Nuclear ³⁵. La seva emissió monofotònica de 140 KeV ha desenvolupat equips de detecció de millors sensibilitat i resolució, escurçant el temps de detecció. El seu període de semidesintegració de 6 hores és més curt que els anteriors radionúclids emprats en aquesta finalitat, el que ha permès incrementar l'activitat administrada amb una menor dosimetria al pacient.

A més, la facilitat d'obtenir-lo per elució del generador ^{99}Mo ³⁶, ha permès la seva disponibilitat immediata a les unitats de Radiofarmàcia en la preparació extemporània de radiofàrmacs marcats amb aquest radionúclid, gràcies a la versalitat del seu comportament químic capaç de combinar-se amb moltes altres estructures moleculars ³⁷. Formant complex amb el HMPAO, el seu isòmer lipofílic pot traspasar les membranes del leucòcits i quedar fixat en ells ³⁸. Aquesta particularitat, va permetre la seva aplicació com a marcador dels leucòcits.

Tots aquests aspectes, l'han fet el radiofàrmac més ideal per ser utilitzat en l'estudi dels diferents estats clínics del pacients amb sospita de patir malalties inflamatòries i infeccioses. Des de la seva descripció per Peters ³⁹ de l'aplicació del ^{99m}Tc-HMPAO marcant els leucòcits, la seva utilitat continua a hores d'ara i ho ha estat durant tot aquest treball.

1.3. Patologies objecte d'estudis amb ^{99m}Tc-HMPAO-leucòcits

Si establim una classificació de les patologies segon el seus llocs de localització en el pacient, les podem diferenciar en les que ho fan preferentment al budell, als vasos, als ossos o bé sense una localització clarament establerta ⁴⁰. Es detallen a continuació les patologies estudiades més freqüentment amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO, objecte de l'estudi i l'estratègia diagnòstica establerta a Medicina Nuclear en cada cas.

1.3.1. Patologies inflamatòries localitzades al budell

Els processos inflamatoris del budell són inherents a la pròpia patologia del pacient sense que, a hores d'ara, encara no es conegui cap agent patògen concret. Per aquest motiu es parla, en aquest cas, de malalties inflamatòries i no de malalties infeccioses.

Les patologies de la Colitis Ulcerosa ⁴¹ i la malaltia de Crohn ⁴², han estat habitualment estudiades amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO. En tots dos casos, la gammagrafia pot evidenciar una imatge patològica dels leucòcits a les 2h postadministració de la dosi, localitzada en les àrees del colon transvers, angle esplènic, colon descendent i fins i tot fins el recte, segon sigui la localització i el grau d'activitat de la patologia (Figura 1).

Figura 1. Imatge gammagrafia de la detecció anterior de l'abdomen en una pacient de 44 anys amb sospita de colitis ulcerosa activa, estudiat amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO.

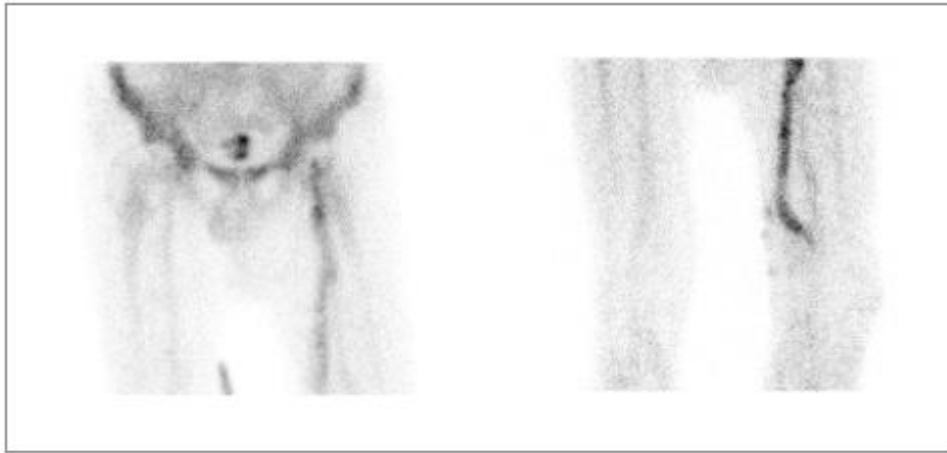


1.3.2. Patologies infeccioses localitzades als vasos sanguinis

Les patologies que afecten aquesta zona del cos i que són més freqüentment estudiades provenen de processos infecciosos derivats d'intervencions quirúrgiques per a d'implantació de bypass o pròtesis vasculars ⁴³. Generalment, tenen la seva rellevància quan es localitzen als grans vasos a l'alçada de la pelvis del pacient.

Si l'activitat deguda als leucòcits marcats en la trajectòria d'un vas a on es sospita la localització patològica es manifesta persistent i diferenciada de la distribució fisiològica en el cos del pacient, es considera un cas positiu d'infecció (Figura 2).

Figura 2. Pacient de 83 anys amb infecció a la pròtesi vascular a la cama esquerra.

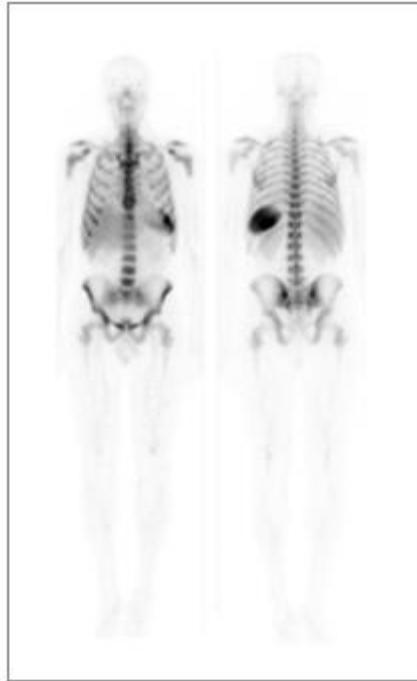


1.3.3. Patologies infeccioses difícilment localitzables

En aquest cas, la demanda clínica es produeix per verificar si és possible detectar algun focus infecció en el pacient, ja que generalment no s'ha pogut identificar l'agent patogen que la causa ⁴⁴. Aquestes patologies conformen el que es denomina Febre d'Origen Desconegut (F.O.D.). És molt freqüent que es sol·liciti realitzar l'estudi diagnòstic només amb la sospita de la causa però sense tenir els resultats, vers la identificació de l'agent patogen que es troben en el procés de cultiu del fluids procedents del pacient.

En aquests cas, es practica un rastreig dels leucòcits marcats a tot el cos sencer del pacient en la cerca d'una acumulació d'activitat no esperada i diferenciat de la distribució fisiològica dels leucòcits marcats. És l'exploració amb major nombre de resultats negatius als leucòcits marcats (Figura 3).

Figura 3. Imatge gammagràfica de les deteccions de cos sencer anterior i posterior dels propis leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO en un pacient de 30 anys amb sospita de malaltia de febre d'origen desconegut.



1.3.4. Patologies infeccioses als ossos

Representen la majoria dels casos estudiats amb ^{99m}Tc -HMPAO marcant leucòcits. En aquest cas, a Medicina Nuclear s'utilitza una estratègia diagnòstica per diferenciar els processos inflamatoris dels infecciosos entre si ⁴⁵. Consisteix en complementar l'estudi dels leucòcits marcats amb un estudi previ amb un radiofàrmac, generalment una sal de fosfats⁴⁶ marcats amb ^{99m}Tc que es metabolitza en els ossos del pacient i permet avaluar la seva localització a l'àrea de sospita patològica.

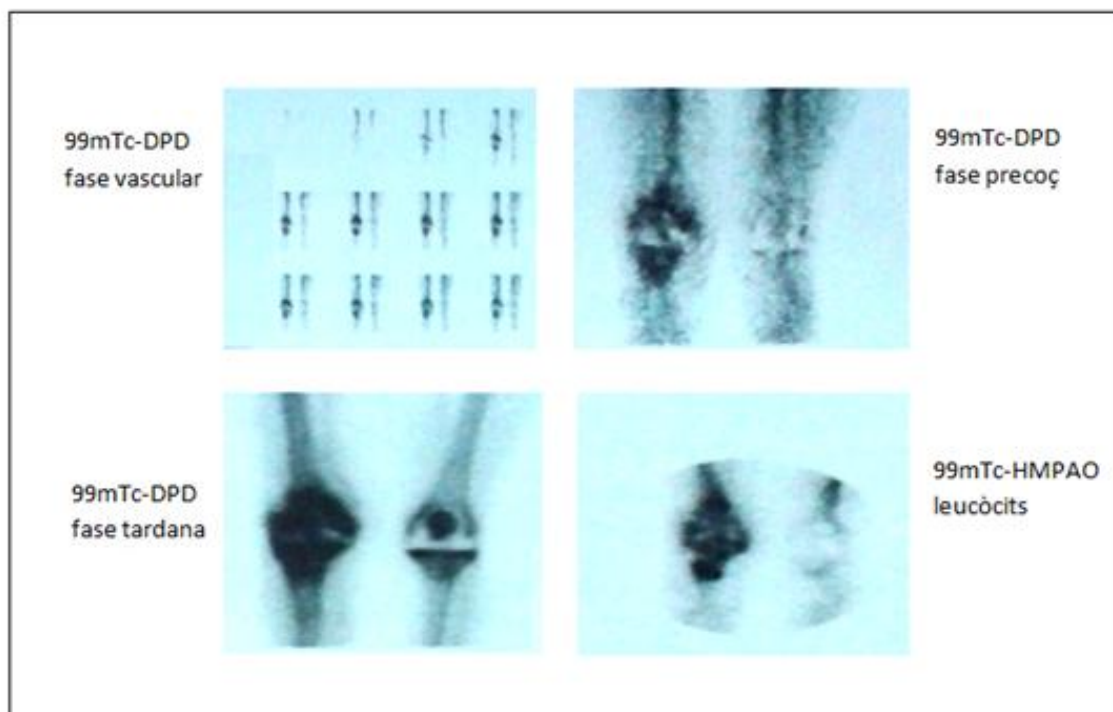
Es basa en obtenir imatges gammagràfiques en tres fases: una anomenada vascular per confirmar un major acumulació d'activitat deguda a la inflamació de la zona, una segona anomenada estàtica en finalitzar la fase vascular i per confirmar

una major retenció del radiofàrmac a la zona i finalment una més tardana per confirmar l'existència del procés actiu ⁴⁷.

Aquestes dades si es correlacionen amb una major activitat localitzada amb l'estudi dels leucòcits marcats és interpretat com la confirmació de l'existència d'infecció, en cas contrari el d'un procés inflamatori ⁴⁸. L'absència d'acumulació d'activitat en les dues exploracions es considera degut a un procés patològic no demostrable o no existent ⁴⁹.

Les patologies més freqüentment estudiades amb aquesta estratègia diagnòstica són per descartar processos infecciosos post intervencions quirúrgiques de resultes de fractures, implantació i recanvis de pròtesis o processos derivats de patologies inflamatòries a l'os, com les artritis (Figura 4).

Figura 4. Imatge gammagràfica de la detecció anterior de les extremitats inferiors de pacient de 76 anys amb sospita d'infecció a la pròtesi del genoll dret, estudiat amb ^{99m}Tc-DPD i els seus propis leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO.



1.4. Plantejament del problema

A Medicina Nuclear, les exploracions realitzades amb radiofàrmacs, són habitualment presentades en sessió clínica, amb la finalitat de discutir i consensuar l'orientació diagnòstica en cada cas, així com fomentar la formació docent dels especialistes. En les sessions hi solen participar els diferents components de l'equip mèdic i altres especialistes implicats com, en aquest cas, els components de la Unitat de Radiofarmàcia, responsables de la preparació i dispensació dels radiofàrmacs que cal administrar als pacients.

Entre els temes tractats, es va plantejar la conveniència de tenir altres arguments per verificar la robustesa dels mètodes emprats en la pràctica diària i no basar la qualitat dels procediments de treball només amb els controls de qualitat habitualment establerts. En aquest context, es va debatre sobre la qualitat i robustesa del procés dels leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO, degut a les nombroses variables que no són quantificades i que intervenen a més de la perícia de cada operador.

Aquest tema ja havia sigut objecte d'un treball previ amb 103 pacients intervinguts de pròtesi de genoll on es van avaluar els seus processos infecciosos amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO. En ell, es plantejaven com probables defectes en el procediment de marcatge: la presència de contaminants marcats de la dosi davant l'observança de major activitat vascular de l'esperada, una possible pèrdua de leucòcits durant les manipulacions dels procés, així com un pèrdua de funcionalisme dels leucòcits marcats donada l'ostensible reducció de l'activitat detectada en les extremitats inferiors, verificada en les imatges planars obtingudes i en contrast de les activitats registrades a les imatges de la zona pèlvica, realitzades com a control als 30 minuts post administració de les dosis.

En tractar-se d'una exploració amb alta demanda diagnòstica, complexitat metodològica en el seu procediment, certa despesa econòmica i temps de

dedicació professional rellevant, va ser motiu d'un projecte d'investigació més ampli i objecte d'aquesta tesi.

A continuació es van plantejar quines eren les variables possibles que intervenien en el procediment, amb l'objectiu de seleccionar les que es tractarien de forma exhaustiva en la present tesi doctoral.

1.4.1. Del procediment en el marcatge dels leucòcits

En aquest apartat es van avaluar les múltiples variables que tenen el seu origen en la complexitat del procediment de marcatge que es realitza a les dependències estèrils de la Unitat de Radiofarmàcia.

1.4.1.1. Obtenció de mostra de sang

L'obtenció protocol·litzada de 50 ml de sang del pacient sobre un preparat d'àcid citrat dextrosa (formula A) (ACD-A) com anticoagulant, és la quantitat de sang recomanada per assolir una quantitat desitjable de 200 milions de leucòcits a la dosi a administrar, en base als valors de referència dels hemogrames més usuals en la població humana ⁵⁰. Conseqüentment, desviacions en l'hemograma del pacient respecte als valors de referència repercutiran en aquesta variable, independentment de la perícia de l'operador que ho realitzi.

La quantitat d' ACD-A recomanable és de 1,5 ml per a 10 ml de sang. Valors inferiors poden causar la coagulació de la mostra.

La solució de ACD-A és la recomanada per la majoria d'autors, per preservar millor l'estructura de les cèl·lules sanguínies presents, encara que també està descrit l'ús de l'heparina com a anticoagulant ⁵¹.

1.4.1.2. Aïllament de plasma lliure de cèl·lules

De la mostra de sang obtinguda, uns 10 ml s'empren per obtenir plasma pobre en plaquetes per a ser utilitzat com a diluent de la dosi i purificació del marcatge.

Per a la seva obtenció cal centrifugar 10 ml de sang del pacient a 2000 g durant 10 minuts, a fi d'obtenir un plasma lliure de cèl·lules que es reservarà fins a la seva posterior utilització com a medi d'incubació del marcatge i per completar el volum final de la dosi a administrar .

No és sols contrastar si queden cèl·lules en el sobrenedant, ja que es dona per suposat que es tracta d'un plasma lliure de cèl·lules i per tant pot ser una font de contaminants cel·lulars a la dosi.

1.4.1.3. Aïllament de leucòcits

La solució d'hidroximetilcelulosa al 6% (HES) ⁵², és la recomanada per a la sedimentació de la mostra per a l'obtenció del plasma ric en leucòcits. Característiques diferents a les recomanades en el pes molecular i qualitat osmòtica en la solució d'HES present en diferents preparats comercials, també poden donar temps de sedimentació diferents de la mostra. La solució d'HES actua com un expansor plasmàtic de la mostra que afavoreix la separació dels components sanguinis de la mostra del pacient .

Per aquest procediment s'obté per simple transacció del plasma a un tub Falcon de 50 ml de capacitat un plasma ric en leucòcits i plaquetes amb una contaminació inevitable d'hematies. Aquest plasma és centrifugat a 150 g durant 5 minuts amb la finalitat de separar les plaquetes dels leucòcits. Les plaquetes queden en el sobrenedant del plasma i les leucòcits al fons del tub.

La presència inevitable d'hematies contaminants és visualment evident per l'aspecte vermellós del fons del tub.

El material emprat per a la separació d'aquestes fases, generalment es tracta de pipetes estèrils de plàstic amb la finalitat de preservar el risc de punxades a l'operador. Amb aquest sistema, l'aspiració es fa per absorció, introduint la punta de la pipeta dins el medi del plasma ric en plaquetes, evitant el contacte amb la fase cel·lular del fons. Possibles turbulències o una aspiració no molt acurada pot originar pèrdues dels leucòcits dipositats al fons del tub. Un cop retirat el plasma, les cèl·lules del fons es resuspenen amb 0,5 ml del plasma sense cèl·lules obtingut a partir de la mostra de sang de la xeringa de 10 ml anterior.

En aquest apartat ja es fa evident visualment la contaminació cel·lular de la mostra per les hematies. El percentatge respecte als leucòcits no es determina per no perdre mostra ni temps en l'exploració i per tant la quantitat d'hematies presents estarà relacionada directament amb l'hemograma previ del pacient, els reactius i la manipulació del procediment. Per la mateixa circumstància, encara que no existeix una evidència ocular, el mateix pot succeir amb les plaquetes. Novament, la manca de perícia de l'operador pot originar una pèrdua de material degut que li cal fer la separació emprant una pipeta estèril per retirar per aspiració el sobrenedant i és fàcil crear turbulències o bé endur-se part cel·lular.

1.4.1.4. Marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc -HMPAO

Un cop preparada la resuspensió del leucòcits amb el plasma lliure de cèl·lules se li pot afegir el radiofàrmac que el marcarà. El marcatge es realitza per simple addició gota a gota d'una solució recent preparada de ^{99m}Tc com a pertecneciat sòdic amb l'HMPAO i que per simple difusió traspasa la membrana cel·lular dels leucòcits fixant-se al citoplasma ⁵³.

Per facilitar-ne el millor contacte del radiofàrmac amb la resuspensió cel·lular és convenient realitzar un parell de moviments rotatoris circulars del tub del marcatge aconseguint homogeneïtzar els dos components. La solució del radiofàrmac cal ser recent per disposar de la forma isomèrica lipofílica del ^{99m}Tc -HMPAO, ja que en funció del temps l'equilibri es decanta vers la forma hidrofílica que no li permet

travessar la barrera cel·lular del leucòcits. Aquesta circumstància requereix tenir establerta una estratègia de preparació i coordinació amb el procés de marcatge.

Tanmateix, la solució del ^{99m}Tc cal que sigui procedent d'un eluït recent, obtinguda del generador de ^{99}Mo , a fi de reduir al màxim el percentatge del ^{99}Tc que es genera per decaïment radioactiu en funció del temps i que també reaccionaria amb el HMPAO. Per controlar la qualitat del marcatge és molt convenient certificar la puresa del preparat mitjançant un control del rendiment del marcatge que cal sigui superior a 95 % per garantir el millor marcatge dels leucòcits ⁵⁴.

Al llarg del temps, s'ha pogut confirmar que el millor marcatge es realitza amb una alta activitat específica del radiofàrmac ⁵⁵. Per aquest motiu es considera primordial verificar el control de la puresa d'aquest, fent servir eluïts recents de ^{99m}Tc . Desviacions del procediment en aquest punt repercutiran com a variable de qualitat del procediment.

1.4.1.5. Purificació del marcatge

Transcorreguts uns 15 minuts d'incubació del radiofàrmac amb la resuspensió cel·lular es practica una centrifugació de 5 min a 150 g amb la finalitat de separar el radiofàrmac que no s'ha marcat a les cèl·lules i que haurà quedat en el sobrenedant que s'obtingui. Una simple aspiració del sobrenedant permetrà afegir de nou un altre volum entre 3 i 5ml de plasma lliure de cèl·lules per resuspendre de nou el botó cel·lular i deixar-ho llest per dispensar la dosi a administrar. Amb aquest procés es pretén retirar tot el ^{99m}Tc -HMPAO que no hagi marcat els leucòcits.

Ara bé, el procediment manual de separació del poc volum de líquid sobrenedant requereix de material fungible, no punxant per a la seguretat de l'operador i per tant la seva perícia en el procés és determinant en aquest pas, essent una causa d'originar variabilitat en la purificació final. També aquí, és molt important la perícia de l'operador per no endur-se material en l'aspiració del sobrenedant.

1.4.1.6. Preparació de la dosi

La suspensió final preparada amb 3-5 ml de plasma lliure de cèl·lules finals és aspirada amb una xeringa per a ser administrada al pacient. Per evitar pèrdua d'activitat per el decaïment del radionúclid, per preservar el funcionalisme de les cèl·lules marcades i no dilatar més en el temps la durada de l'exploració és recomanable administrar la dosi al pacient tan punt estigués llesta per fer-ho. En aquest punt, les variables recauen en el volum final, la presència de cèl·lules contaminants en el plasma usat per diluir i el temps d'espera fins a la administració al pacient.

1.4.2. Dels controls de qualitat del procediment del marcatge

En aquest apartat es detallen els controls de qualitat protocol·litzats per garantir la qualitat del procediment realitzat.

1.4.2.1. Controls rutinaris

Són els que habitualment s'empren en garantir la qualitat del procés realitzat al facultatiu de Medicina Nuclear responsable d'establir el diagnòstic final.

1.4.2.1.1. Rendiment de marcatge

Es el més fiable del procés realitzat. S'expressa com el percentatge de radioactivitat present a la dosi respecte al total d'activitat afegida al moment del marcatge. És un càlcul senzill que s'obté mesurant en un aparell específic lector d'activitat radioactiva (activímetre) tan la dosi a administrar com els plasmes sobrenedants obtinguts en la purificació de la mostra. La suma de totes les parts representa el total de l'activitat inicial. Per aquest procediment s'evita efectuar càlculs correctors deguts al decaïment del radionúclid present. Valors inferiors a un 40 % en el rendiment del marcatge suggereixen errors metodològics ⁵⁶.

Aquest control, té l'avantatge que no representa cap pèrdua d'activitat ni de volum de la dosi, és fàcil d'establir i no endarrereix el procés. Per contra no pot garantir si tot el rendiment reflecteix que el marcatge sigui degut als leucòcits, als contaminants o bé a la presència de restes del radiofàrmac no marcat o procedent de les seves elucions. La bondat de la tècnica es basa en un estricte compliment del procediment per garantir totes aquestes variables, però en canvi no es pot assegurar del tot.

1.4.2.1.2. Inspecció visual

De fàcil aplicació, i permet observar si abans d'administrar la dosi, la suspensió cel·lular final és homogènia i no hi han grumolls que suggereixen la presència de coàguls.

1.4.2.2. Controls periòdics

Són els recomanables de realitzar de manera planificada per verificar el compliment i robustesa del procediment realitzat al llarg del temps. Habitualment no es realitzen per comportar pèrdua de temps i dosi.

1.4.2.2.1. Esterilitat

La immediatesa que requereix administrar la dosi un cop recent preparada, no fa possible realitzar estudis d'esterilitat del producte i el que es fa regularment és la comprovació de la manca d'agents patògens en les àrees de treball i la confirmació de la qualitat del seu aire. Aquest control no repercuteix en canvis de variables en el procediment de marcatge.

1.4.2.2.2. Viabilitat cel·lular

La finalitat d'aquest control radica en verificar la integritat de la membrana cel·lular dels leucòcits marcats. El Trypan-Blue és un colorant que no traspasa la membrana cel·lular i s'utilitza per verificar la seva integritat. Així, una suspensió tamponada obtinguda a partir de 50 µl de la dosi, es mesclen amb una dissolució tamponada de Trypan-Blue al 1% i es fa una lectura de 10 µl de la mescla en un porta al microscopi.

Per establir el resultat del control cal realitzar un comptatge de 100 cèl·lules que permet establir el percentatge corresponent. S'accepta una viabilitat superior al 95 %. Aquest control és essencial per acreditar el posterior funcionalisme dels leucòcits dins el pacient. No és habitual la seva realització per evitar pèrdua de dosi i de temps de l'operador i per l'evidència que es té del seu funcionalisme al llarg de l'experiència obtinguda ⁵⁷.

1.4.2.2.3. Recuperació cel·lular

Aquest control es recomana per validar el procediment. Consisteix en afegir una gota de cada botó cel·lular resuspès, dispensar-la dins un vial de 5ml amb 1 ml de solució salina, i avaluar els tipus de cèl·lules hemàtiques presents i els percentatges respecte al leucòcits presents. S'espera una proporció de 3/1/1 entre hematies, plaquetes i leucòcits. És un bon indicador per avaluar la contaminació cel·lular del procediment.

1.4.2.2.4. Elució del ^{99m}Tc

Aquest és un dels principals inconvenients del procediment realitzat i que pot estar condicionat per diverses circumstàncies, tan per part del pacient com del procediment realitzat. Si la incubació s'ha fet en medi salí en lloc de plasmàtic s'obté una major quantitat d'elució ⁵⁸. En canvi, si es fa en medi plasmàtic

s'impedeix millor l'activació dels granulòcits. Requereix partir d'una mostra procedent de la dosi, incubar-la a 37°C i realitzar centrifugacions de 150 g durant 10 minuts a les 1, 4 i 24 hores. S'avalua l'activitat al sobrenedant. És acceptable una activitat fins al 10 % del total en el sobrenedant a la 1 h.

1.4.2.2.5. Captació pulmonar

A l'hora de visualitzar la trajectòria que segueix la dosi administrada, és verificable una captació inicial a la regió pulmonar. Això és degut al comportament fisiològic dels leucòcits marcats. Una manera indirecte de verificar el manteniment de la seva capacitat fagocítica radica en una detecció gammagràfica a la regió pulmonar als 30 minuts postadministració de la dosi ⁵⁹.

1.4.2.2.6. Relació activitat fetge/melsa

Igualment la localització als teixits tissulars del sistema fagocític mononuclear (SFM) és indicador del seu funcionalisme. Una major captació de la melsa respecte al fetge està directament relacionada amb la major xarxa vascular d'aquest teixit. S'especula que una major activitat en el fetge de l'esperada és atribuïble a la presència dels hematies contaminants de la dosi, que també podrien haver quedat marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO.

1.4.3. Del procediment a Medicina Nuclear

En aquest apartat s'avaluen les variables que tenen el seu origen en la complexitat del procediment de detecció que es realitza amb els utilatges de Medicina Nuclear, així com les estratègies diagnòstiques establertes i a les situacions clíniques dels pacients.

1.4.3.1. Obtenció imatges gammagràfiques

Per millorar la resolució de les imatges ha estat habitual practicar deteccions d'imatges planars aplicant el col·limador de la gammacàmera molt a prop de la pell del pacient. Per obtenir una localització espacial es recorria a realitzar deteccions planars de diferents projeccions de la mateixa àrea.

Actualment, aquest sistema ha estat perfeccionat per l'obtenció d'imatges gràcies al sistema de tomografia computeritzada de fotons simple (SPECT) ⁶⁰, així com la complementació amb obtenció d'altres imatges TAC ⁶¹ que permeten obtenir imatges seqüencials planars d'un volum corporal en diferents nivells.

En aquest estudi, ens hem basat en les imatges tridimensionals obtingudes de manera fins ara convencional. Les limitacions del procediment recauen en pèrdues de sensibilitat, per obtenir en una imatge planar diferents volums i distàncies. Així mateix només es sol tenir una imatge de la zona afectada, amb desconeixement de la biodistribució de la dosi a la resta del cos.

1.4.3.2. Estratègies diagnòstiques

Mentre el diagnòstic diferencial en les patologies al budell, es basen en la localització de l'activitat leucocitària marcada en el trajecte intestinal i, per tant, amb una sola exploració diagnòstica amb leucòcits marcats és suficient per establir el diagnòstic, no passa el mateix amb la patologia infecciosa ⁶².

En aquest cas, el diagnòstic pot quedar emmascarat amb els processos inflamatoris. Per potenciar la capacitat diagnòstica de l'exploració, és habitual practicar un doble estudi amb l'administració d'un radiofàrmac d'alta afinitat per a l'os que permet establir les fases inflamatòries de la patologia del pacient ⁶³, com s'ha descrit abans a l'apartat de les patologies òssies estudiades amb ^{99m}Tc-HMPAO.

1.4.3.3. Patologies i situació clínica del pacient

Finalment, una de les limitacions diagnòstiques d'aquesta exploració radica en el propi pacient i en l'estat de l'evolució clínica de la seva patologia. Les patologies que cursen amb localitzacions coincidents amb els llocs de distribució fisiològica dels leucòcits ja representen una dificultat afegida. Els efectes terapèutics establerts en el pacient també poden reduir la seva captació ⁶⁴. És habitual realitzar l'exploració sense la retirada de la medicació del pacient donat que és difícil de compaginar la programació de la prova amb el pacient i tampoc resulta ètic privar-li d'un tractament pautat.

1.5. Situació real o definició del problema

En el nostre país és a partir del 1990 que es recull a la llei del medicament ⁶⁵, les directives dictades per la Unió Europea d'obligat compliment per a tots els estats associats sobre els medicaments i a on, per primer cop els radiofàrmacs són considerats com medicaments tant en la seva vessant diagnòstica com terapèutica. Per aquest motiu comencen a aparèixer monografies a les farmacopees i en noves edicions de la farmacopea espanyola ja es recullen guies radiofarmacèutiques sobre procediments dels radiofàrmacs i entre ells el marcatge de cèl·lules sanguínies ⁶⁶.

El desenvolupament de la llei del medicament va originar el registre de cada radiofàrmac produït industrialment com a qualsevol medicament en el mercat europeu i el desenvolupament de l'especialitat professional de la Radiofarmàcia, com la responsable de la seva utilització als centres de Medicina Nuclear, en la preparació extemporània i dispensació dels radiofàrmacs als pacients, que s'ha anat regulant amb nous decrets ⁶⁷.

En el transcurs d'aquesta posta al dia i adequació de les noves normatives establertes, l'activitat assistencial amb el leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO ha vingut desenvolupant-se ininterrompidament. S'ha anat continuant practicant en

cada centre, els procediments ja experimentats i s'han anat adequant a les noves propostes promulgades, però cal ressaltar que sense una obligació en el seu compliment ⁶⁸. Aquest canvi s'ha anat fent a diferents velocitats com s'ha pogut constatar en les múltiples comunicacions a congressos de l'especialitat i a la bibliografia científica internacional sobre la matèria al llarg d'aquest anys.

En aquest context, es va constatar que la qualitat dels procediments de marcatge es podia qüestionar i es podia posar en dubte la robustesa del procés, degut a les nombroses variables que no són quantificades i que intervenen a més, com dèiem abans, de la perícia de cada operador.

Si ens centrem en el procediment de l'operador, aquests factors poden anar des de la seva perícia i el seu rigor fins als equips i material que utilitza. Defectes en el compliment del temps protocol·litzat a cada pas del procés, manipulacions amb pressa, ús de material inadequat són, de per si, factors que lògicament intervindran en el resultat final i justificaria una inadequada qualitat del procés realitzat ⁶⁹.

Així, en el procediment del marcatge dels leucòcits, no respectar els temps i velocitats de centrifugació, una separació no acurada de les fases obtingudes, utilitzar proporcions i qualitats diferents de reactius, s'intueixen entre les causes de possibles errors metodològics. Tanmateix també cal destacar les condicions de treball que s'han de planificar per realitzar aquesta tasca en un ambient de comoditat i tranquil·litat. El fet de compaginar l'operador el seu temps de treball durant el procediment de marcatge amb altres tasques de la Unitat de Radiofarmàcia, es preveu un inconvenient en respectar els temps de cada pas i no manipular massa ràpidament per atendre altres activitats ⁷⁰. Aquest factor, difícilment tangible, és teòricament el principal factor atribuïble a una pèrdua de qualitat del procés realitzat per l'operador.

Respecte a l'obtenció de les imatges gammagràfiques, també cal fer esment a diversos factors que intervenen en la qualitat del procés i que afecten tant a l'operador, com en el cas anterior del marcatge, als equips i als protocols a seguir.

En el cas de l'operador ha de procurar el compliment del protocol d'actuació en diversos aspectes. Respecte al pacient, procurar que realitzi una micció prèvia a la detecció per a evitar activitat que fisiològicament es localitza a la bufeta de l'orina per eliminació del radiofàrmac eluït del marcatge, a fi d'evitar detectar activitat a la zona, així com reduir l'activitat restant als capil·lars sanguinis. Ha de col·locar al pacient adequadament a la llitera de l'equip detector emprat, que aquest equip disposi dels col·limadors adequats i fer l'adquisició de les imatges en el temps i condicions protocol·litzades. Ha de respectar els diferents temps de detecció i procurar repetir les mateixes condicions metodològiques en realitzar les diferents deteccions que calguin practicar al pacient ⁷¹.

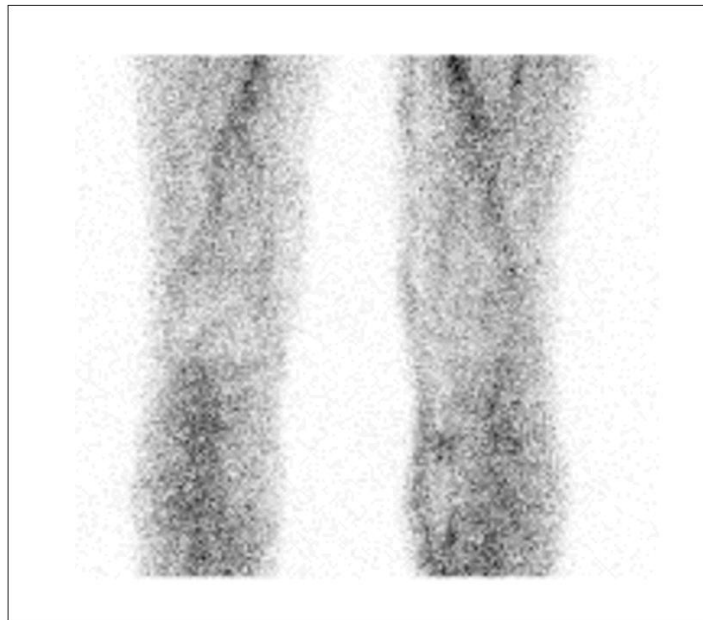
Finalment, en el supòsit que tots els factors anteriorment exposats s'hagin complert com han estat protocol·litzats, cal esmentar els factors deguts a les pròpies limitacions del sistema i que abasten variables no avaluades en aquest treball com els tipus d'utilatge i l'evolució clínica del pacient.

L'únic control a l'abast per justificar la qualitat del procediment del marcatge, és la determinació del rendiment del marcatge. Valors elevats poden ser causats per la presència d'un major nombre de leucòcits marcats o bé el marcatge d'altres cèl·lules contaminants presents a la dosi.

Per al contrari, valors inferiors als esperats es poden interpretar com una mostra de leucòcits presents inferiors als esperats i aquí el ventall pot anar des d'un mal procediment en l'obtenció i manipulació de la mostra fins a un hemograma pobre previ del pacient que justifiqui el resultat final.

A la pràctica diària, davant d'un possible error diagnòstic comès en la interpretació de les imatges obtingudes amb ^{99m}Tc -HMPAO marcant els leucòcits, els controls de qualitat habituals no permeten justificar totes les variables metodològiques que intervenen en el procés i per tant no permet establir si la causa de l'error és atribuïble a l'operador que realitza l'exploració, a les limitacions inherents de la pròpia prova diagnòstica o inclús a la situació clínica del pacient (Figura 5).

Figura 5. Imatge gammagràfica planar obtinguda de les extremitats inferiors en projecció anterior d'un pacient de 73 anys, amb sospita d'infecció de pròtesi de genoll dret i sense dipòsits anòmals dels seus propis leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO.



Per totes aquestes raons anteriorment esmentades, amb la finalitat d'avaluar quina transcendència tenen part d'aquestes circumstàncies a la pràctica diària dels leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO es va plantejar fer aquesta tesi.

2. HIPÒTESIS de TREBALL i OBJECTIUS

2.1. Hipòtesis de treball

El procediment de marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc -HMPAO presenta diferències metodològiques que provoquen com a resultat final diferents nombres de leucòcits marcats respecte a l'esperat, pèrdues de la seva viabilitat cel·lular, quimiotactisme i capacitat fagocitària, marcatge d'altres components presents a la dosi, entre altres, que no poden ser avaluats amb els controls de qualitat habituals establerts.

2.2. Objectius

Per tal de descartar possibles errors metodològics atribuïbles a les diverses variables del procediment realitzat i a fi de garantir la utilitat diagnòstica dels leucòcits amb ^{99m}Tc -HMPAO en la pràctica assistencial de la Medicina Nuclear, els objectius que es van proposar són:

2.2.1. Principal. Verificar, analitzar, comprovar l'estratègia de qualitat per avaluar les variables que intervenen en el procediment diagnòstic del leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO i que no poden ser justificables amb els controls habitualment establerts. Per dur a terme aquest objectiu principal és necessari considerar els següents objectius secundaris:

2.2.2. Secundaris. Dissenyar metodologies per a la determinació de les variables motius de l'estudi, emprant els recursos propis a l'abast del centre, sense recórrer a metodologies complexes ni difícilment reproduïbles. A tal fi que no representin pèrdues significatives de la dosi a administrar ni incomplir les normatives vigents en radioprotecció.

Que els nous procediments de qualitat proposats permetin disposar dels resultats abans d'elaborar l'informe diagnòstic sense representar una demora de temps de permanència del pacient en el centre.

3. METODOLOGIA

3.1. Disseny de l'estudi

Estudi prospectiu, direccional i transversal.

3.2. Àmbit de l'estudi

Hospital de nivell terciari de referència amb 1072 llits, pertanyent al Institut Català de la Salut (ICS). Va implicar a la Unitat de Radiofarmàcia i al Servei de Medicina Nuclear.

3.3. Població de l'estudi

La mostra total de la població estudiada va ser de 320 pacients (169 dones) de 63,2 (\pm 23,1) anys, afectes de diverses patologies inflamatòries i infeccioses que varen ser estudiats amb els seus propis leucòcits marcats amb $^{99m}\text{TcHMPAO}$.

Per a no perjudicar el ritme de treball a la pràctica diària a Radiofarmàcia i Medicina Nuclear, ni tampoc d'alterar la programació establerta dels pacients i en raó de la disponibilitat dels recursos humans i tècnics, aquest estudi es va realitzar cronològicament en successives etapes al llarg del temps.

Per aquests motius, la mostra total de la població ha estat conformat per tres grups d'estudi de pacients i separats en el temps, que es detallaran posteriorment al descriure les variables estudiades. A cadascun d'ells se'ls hi va assignar i practicar un tipus diferent dels controls proposats.

En el primer grup es va determinar un hemograma complet i la viabilitat leucocitària de la dosi. Posteriorment, en el segon grup, es va obtenir la distribució dels components radioactius presents en la dosi i la puresa del $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$, precursor del marcatge amb els leucòcits.

Finalment, al tercer grup es va determinar la distribució de la dosi en el propi pacient mitjançant deteccions gammagràfiques a l'abdomen i genolls.

Els grups conformats així com el global i les localitzacions anatòmiques de les seves patologies inflamatòries i infeccioses es detallen a la taula 4.

Taula 4. Localització anatòmica de les patologies dels pacients estudiats amb ^{99m}Tc -HMPAO-leucòcits.

| ESTUDIS | GLOBAL | GRUP I | GRUP II | GRUP III A | GRUP III B |
|-----------------|---------------|---------------|----------------|-------------------|-------------------|
| Budell | 69 | 16 | 15 | 35 | 3 |
| Vasos | 17 | 3 | 6 | 7 | 1 |
| Inespecífic | 5 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| Crani | 11 | 4 | 6 | 1 | 0 |
| Tòrax | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Pelvis | 71 | 18 | 19 | 31 | 3 |
| Colze | 7 | 2 | 3 | 2 | 0 |
| Canell | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| Fèmur | 12 | 0 | 4 | 2 | 6 |
| Genoll | 94 | 32 | 31 | 4 | 27 |
| Tíbia | 13 | 0 | 5 | 1 | 7 |
| Peus | 16 | 7 | 8 | 0 | 1 |
| Pacients | 320 | 87 | 101 | 84 | 48 |

Les patologies que es van localitzar al budell (n=69) les van conformar 45 pacients afectes de Colitis Ulcerosa i 24 de Crohn.

A l'apartat dels vasos (n=17) 6 pacients varen presentar sospita de patologies infeccioses post intervencions quirúrgiques reparadores i 11 en la implantació de pròtesi vasculars. Com a localització inespecífica es van estudiar 5 casos de febre d'origen desconegut (F.O.D).

Finalment, les sospites d'infeccions a l'esquelet (n=229) es descriuen en raó si es localitzaven en ossos rics en medul·la roja i sistema fagocític mononuclear (n=84) o a l'esquelet axial (n=145). En tots dos casos, la demanda de l'exploració

provenia de 26 pacients amb malalties inflammatòries, 46 post intervencions quirúrgiques i 157 d'implantació de pròtesis (65 de maluc i 82 de genoll).

A part, cal esmentar, com també s'indicarà en el seu apartat, que es van utilitzar altres mostres de 34 persones (20 dones) de 59,2 (\pm 19,3) anys amb diverses patologies inflammatòries i infeccioses (18 pròtesis de genoll, 12 malalties inflammatòries del budell i 4 pròtesi de maluc) que varen ser estudiades amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO per a validar la selectivitat (10 mostres) i precisió (24 mostres) d'una nova aplicació de la citometria com a pas previ de l'estudi.

3.4. Període de l'estudi

Aquest estudi va ser aprovat pel Comitè Ètic d'Investigació Clínica de l'Hospital (PR (AG) 126/2008) i es va realitzar amb el consentiment informat dels pacients, entre setembre de 2007 fins febrer de 2012 en el Servei de Medicina Nuclear.

Per a realitzar aquest estudi, ha calgut validar prèviament una nova aplicació de la citometria de flux que es va establir amb la selectivitat i repetibilitat del mètode l'any 2006 i es va completar amb la verificació de la reproductibilitat l'any 2009.

3.5. Font de les dades

La informació de les dades es van obtenir a partir dels arxius del servei de Medicina Nuclear i a la pròpia historia clínica del pacient, fins al dos anys posteriors al diagnòstic gammagràfic establert.

3.6. Variables analitzades

Per realitzar aquest estudi d'acord amb els objectius establerts anteriorment, la nova estratègia proposada per avaluar la qualitat del procés, s'han analitzat les variables:

- Quantificació de les hematies, plaquetes, leucòcits, limfòcits, monòcits, neutròfils i viabilitat leucocitària a la dosi dels pacients.
- Distribució del ^{99m}Tc al plasma, plaquetes, limfòcits i monòcits, hematies i neutròfils a les dosis dels pacients.
- Localització de l'activitat radioactiva administrada en el propi pacient als ossos, vasos i parts toves (teixits sense estructura òssia i grans vasos) mitjançant la detecció gammagràfica a l'abdomen i als genolls.

Amb aquestes variables, es van determinar a més a més el rendiment del marcatge en tots els casos i la puresa del radiofàrmac ^{99m}Tc -HMPAO en la distribució de la radioactivitat a la dosi dels pacients. Aquest controls ja establerts regularment es van realitzar conjuntament amb la finalitat de justificar la utilitat de les dades obtingudes.

Es van buscar metodologies al nostre abast que permetessin practicar els controls escollits dins dels límits desitjats. Per aquest motiu, es van adequar tècniques ja establertes en altres procediments per adaptar-les als objectius establerts.

Així es va validar una nova aplicació de la citometria de flux multiparamètrica per a la determinació de l'hemograma de la dosi i de l'estudi de la viabilitat cel·lular.

Per avaluar els diferents components marcats a la dosi es va adaptar un sistema de separació dels components de la sang en un medi de densitat específic i finalment es va desenvolupar un nou sistema d'avaluació de les dades gammagràfiques a partir de referències de la bibliografia.

3.7. Procediments realitzats previs a l'estudi

Per les raons anteriorment exposades, es va fer una posta a punt i validació d'una nova aplicació de la citometria de flux multiparamètrica, aprofitant la disponibilitat de disposar de la unitat de fenotipatge de l'hospital.

3.7.1. Fonament de la tècnica de la citometria de flux multi paramètrica

A les cèl·lules de la mostra objecte a analitzar se les marca prèviament amb anticossos específics de fluorescència per a la seva millor identificació ⁷². La fluorescència d'aquests anticossos emeten diferents longituds d'ones quan incideixen amb un raig làser que procedeix del citòmetre i que conforma l'utilatge que es requereix (Figura 6).

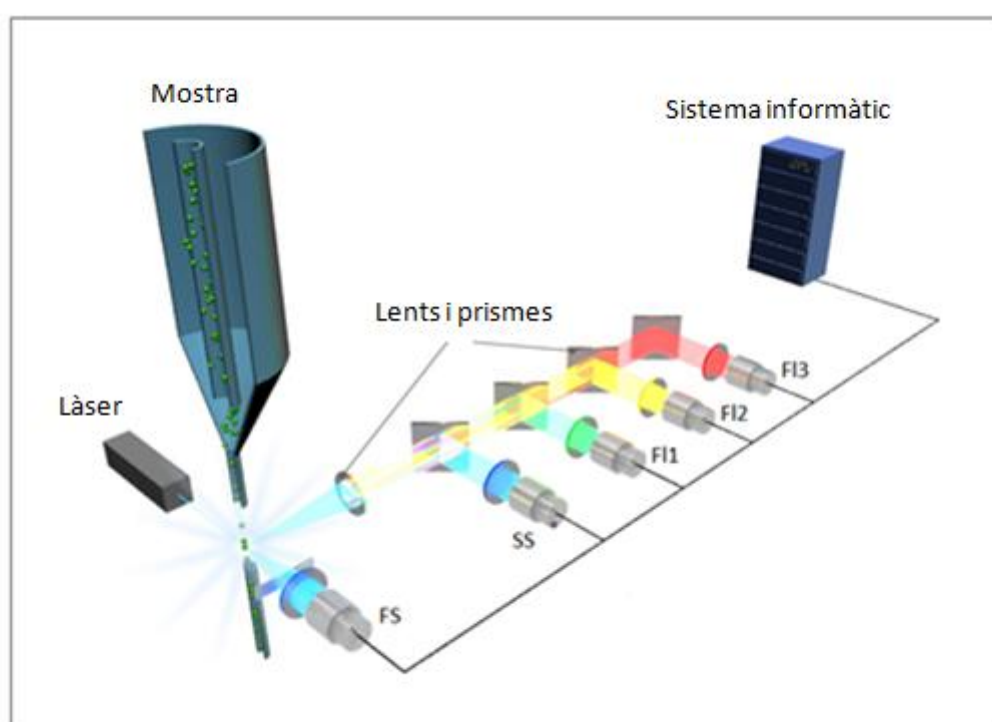
Figura 6. Utilatge que conforma un Citòmetre 5500.



La mostra és injectada al citòmetre en un sistema de flux laminar continu per facilitar la interacció del raig làser amb els components de la mostra. En incidir aquest sobre cada cèl·lula es produeix una dispersió de la llum en diferents longituds d'ona en raó a la seva grandària i complexitat interna cel·lular i a les molècules de fluorescència que la marquen. Aquestes emissions diferenciades són registrades per detectors adequats a cada tipus de longitud d'ona.

El citòmetre esta dotat d'un detector per a la transmissió frontal FS o Forward Scatter que permet analitzar les diferents grandàries cel·lulars, un altre per a la dispersió lateral SS o Side Scatter que analitza les cèl·lules segons les seves complexitats internes i, finalment, altres que capten longituds d'ona per a les fluorescències emeses pels diferents marcadors utilitzats (FL1,FL2, FL3) com es detalla a la figura 7.

Figura 7. Esquema funcionament del citòmetre.

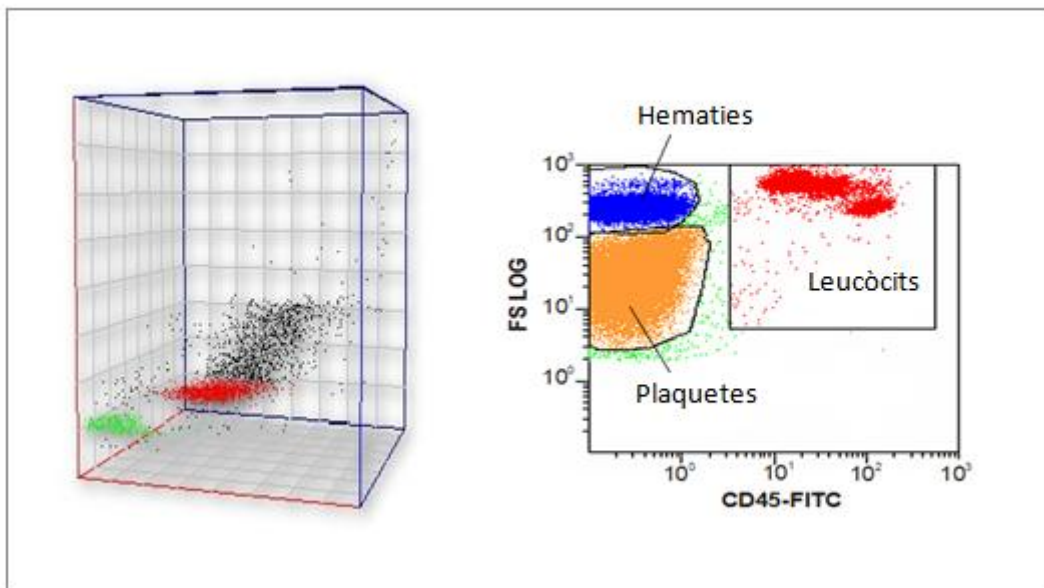


Per obtenir un bon rendiment, cal registrar de l'ordre de 10^4 interaccions entre el raig làser i la mostra.

La mostra analitzada en el volum de la mostra és avaluada en gràfiques de punts (dot/plots) mitjançant les combinacions biparamètriques en escales lineals i logarítmiques dels esdeveniments detectats a cada detector.

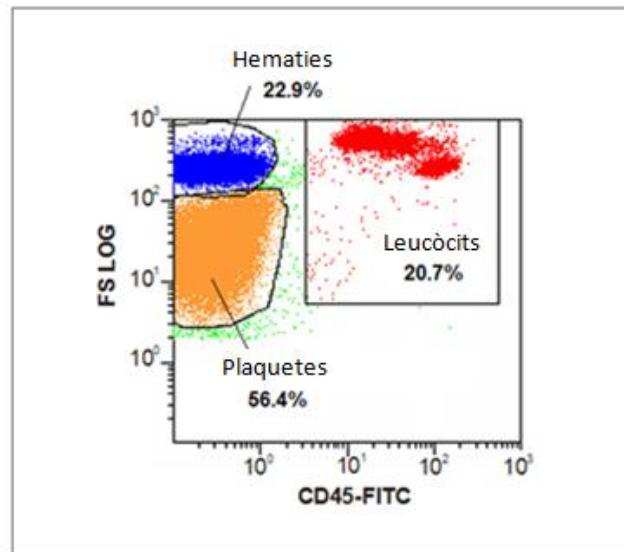
A cada gràfic, el sistema assigna arbitràriament diferents colors per tipus cel·lular analitzat, per facilitar la seva identificació visual, així com crea finestres per seleccionar i/o excloure (gating) i realitza nous anàlisis (Figura 8).

Figura 8. La mostra detectada i analitzada en un volum de la mostra pot ser analitzada per la combinació gràfica de dos dels detectors emprats (dot/plot).



La quantificació de les cèl·lules analitzades es realitza segons el nombre de registres detectats però és més habitual la descripció en percentatges de cada tipus present respecte al total de cèl·lules observades (Figura 9).

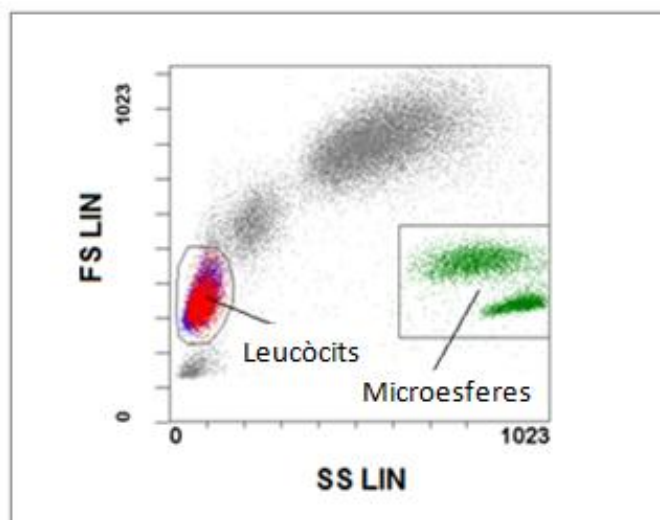
Figura 9. Exemple de dot/plot per al càlcul percentatges.



Els resultats es poden obtenir creant les àrees d'interès de manera manual o automàticament sobre el gràfic.

Per obtenir la quantificació absoluta expressada en cèl·lules diana per unitat de volum es requereix quantificar en un gràfic biparamètric d'escala logarítmica una concentració calibrada de microesferes detectades en FL1 i FL2 i que cal afegir a la mostra (Figura 10).

Figura 10. Exemple de dot/plot per a càlcul absolut.



En ser d'una concentració coneguda (certificada pel fabricant) aquestes dades permeten fer el recompte absolut corresponent a les altres cèl·lules diana, mitjançant la fórmula següent:

$$\text{Recompte absolut (cèl·lules / } \mu\text{L)} = \text{nombre de cèl·lules de la població diana} \times \text{nombre de microesferes / } \mu\text{L (proveït pel fabricant)} / \text{nombre de microesferes comptades a FL1 / FL2.}$$

La citometria de flux multiparamètric és una metodologia que s'aplica regularment en el fenotipatge de cèl·lules leucocitàries, que requereix poca mostra, de procediment ràpid i molt fiable donat el nombre elevat de registres obtinguts ⁷³. Aquestes característiques han estat el principal condicionant per fer-ne una nova aplicació per a la determinació dels components cel·lulars presents a les dosis dels leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO.

3.7.1.1. Validació de la nova aplicació de la citometria de flux multi paramètrica

Es va practicar una validació de l'ús del mètode aplicant els mínims controls possibles, en tractar-se de mostres de pacients, làbils i radioactives i sense la possibilitat de disposar de controls estandarditzats ni repetibles. Per aquest motiu només es va verificar la selectivitat i la precisió.

3.7.1.1.1. Població per a la validació

Mostres procedents de 34 persones (20 dones) de 59,2 (± 19,3) anys amb diverses patologies inflamàtores i infeccioses (18 pròtesis de genoll, 12 malalties inflamàtores del budell i 4 pròtesi de maluc) i estudiades amb leucòcits marcats amb ^{99m}Tc-HMPAO, van ser emprades per a validar la selectivitat (10 mostres) i repetibilitat (3 mostres) a l'any 2006 i es van complementar amb altres 21 mostres l'any 2009 per verificar la reproductibilitat del mètode.

3.7.1.1.2. Procediments realitzats

3.7.1.1.2.1. Selectivitat

Com el mètode proposat analitza les diferents cèl·lules sanguínies de la mostra a partir del marcador específic només dels leucòcits (CD45 - FTIC), es va verificar la selectivitat del mètode ⁷⁴ en la identificació i quantificació de les cèl·lules contaminants (hematies i plaquetes) en 10 mostres consecutives.

Per això cada mostra es va preparar, a més a més, amb 10 µl d'anticossos marcadors fluorescents específics per a cada tipus de cèl·lula present i dotats de diferents emissions de longituds d'ona, per facilitar la seva detecció:

- Glicoferrina A o CD235a conjugat amb ficoeritrina que s'uneix a la membrana dels hematies ⁷⁵.
- CD61 conjugat amb isocianat de fluoresceïna que s'uneix a la proteïna GPIIIa expressada en la membrana de les plaquetes ⁷⁶.

Realitzada la seva adquisició, les dades es van analitzar combinant els eixos logarítmics FS (grandària) respecte al valor de CD45 (leucòcits) per tal d'identificar els esdeveniments corresponents als hematies, plaquetes i leucòcits . Sobre el gràfic es va seleccionar cada grup (gating) i es va realitzar una nova anàlisi combinant els eixos FS (grandària) respecte, en cada cas, a la fluorescència del seu marcador específic (CD235a per a les hematies i CD61 per a les plaquetes) .

Els resultats s'expressen en el percentatge de cada tipus de cèl·lules diana identificades pel seu marcador específic per les hematies (Figura 11) i les plaquetes (Figura 12) respecte al total de les mateixes cèl·lules prèviament seleccionades com a tals utilitzant el marcador específic dels leucòcits.

Figura 11. Estudi de la selectivitat de les hematies. (A partir dot/plot que utilitza la detecció específica del leucòcits CD45, la població d'hematies seleccionada és verificada per gating al dot/plot en el seu marcador específic GFA).

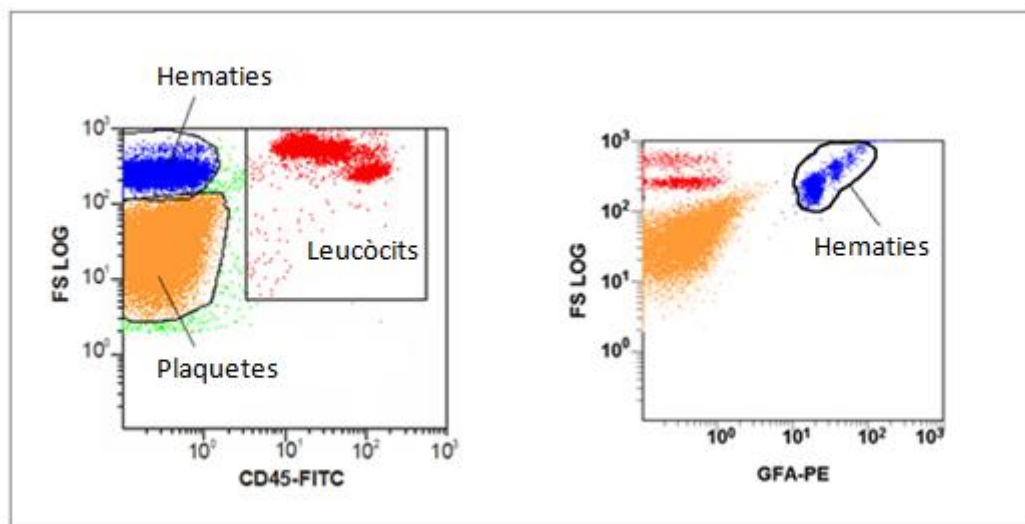
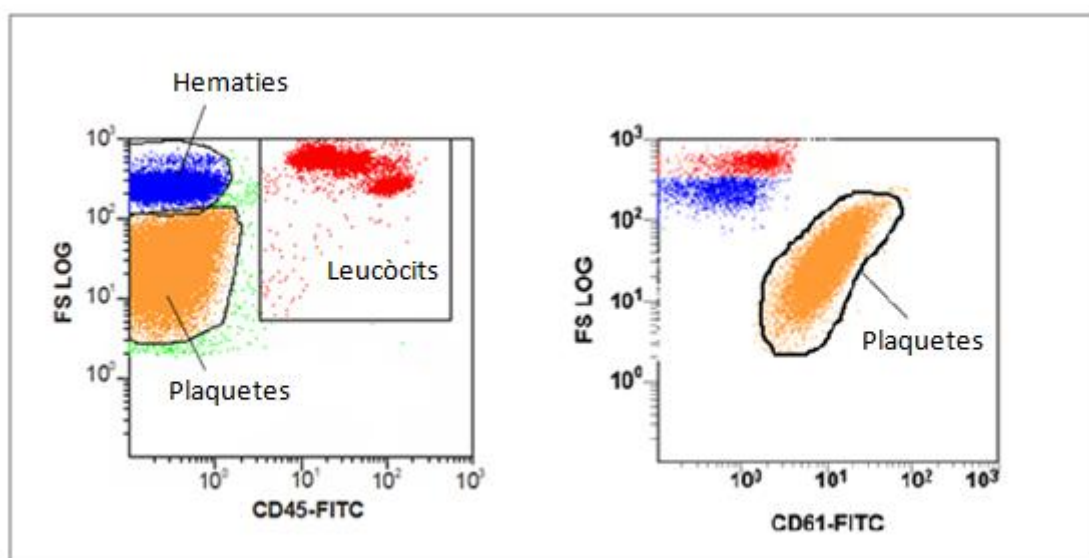


Figura 12. Estudi de la selectivitat de les hematies. (A partir dot/plot que utilitza la detecció específica del leucòcits CD45, la població d'hematies seleccionada és verificada per gating al dot/plot en el seu marcador específic CD61).



3.7.1.1.2.2. Precisió

D'altra banda, per establir la precisió ⁷⁷ del mètode es va determinar la seva repetibilitat i reproductibilitat.

3.7.1.1.2.2.1. Repetibilitat

La repetibilitat es va valorar en un mateix dia, mitjançant l'anàlisi de tres mostres replicant en cadascuna 10 determinacions per a cada tipus de paràmetre estudiat.

Els resultats es van expressar en percentatges de cada tipus de cèl·lula diana respecte al total de cèl·lules presents i en valors de recompte absolut per a cadascuna d'elles, mentre que la viabilitat dels leucòcits, es va expressar en el percentatge de cèl·lules viables respecte al total.

3.7.1.1.2.2.2. Reproductibilitat

La reproductibilitat de la tècnica es va establir amb la determinació per triplicat d'una mostra diària i diferent durant 21 dies successius per determinar els hematies, plaquetes, leucòcits i les seves subpoblacions.

3.7.1.1.1.3. Tractament estadístic de les dades validació

Es van determinar per a les variables quantitatives: la mitjana, la desviació estàndard i els coeficients de variació per al replicat de cada mostra. Per determinar la concordança intraclasse ⁷⁸ es va utilitzar un paquet estadístic SPSS versió 15.

3.8. Procediments propis de l'estudi

El procediment del marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc-HMPAO es va realitzar a les dependències estèrils de la unitat de Radiofarmàcia. La preparació extemporània del radiofàrmac ^{99m}Tc-HMPAO ⁷⁹, precursor del marcatge, es va realitzar a partir del ^{99m}Tc obtingut d'elutriats ⁸⁰ de generadors ⁹⁹Mo / ^{99m}Tc de 30GBq de les firmes Amersham de GE® (General Electric. Madrid, Spain) i

Mallinckrodt (Tyco ®, Madrid, Spain) amb equips reactius de HMPAO ⁸¹ (Ceretec, Amersham de GE®, Madrid , Spain).

Les dosis administrades van ser de 262.3 (± 81.4) MBq amb un rendiment de marcatge global del 45.1 (± 11.6) %.

A continuació es descriu el procediment realitzat seguint l'ordre cronològic d'actuació al treball. En el primer lloc, es descriu la nova aplicació de la citometria de flux multiparamètrica per a ser utilitzada com a un dels nous controls proposats en l'estratègia d'aquest treball.

3.8.1. Grup I

En aquest grup es va determinar un hemograma complet i la viabilitat leucocitària dels components de la dosi.

3.8.1.1. Població estudi grup I

Al primer grup conformat per 87 pacients (48 dones) amb una edat mitjana de 59,2 (SD: 19,3) anys, afectats de diverses patologies inflamatòries i infeccioses: 10 colitis ulcerosa, 6 Crohn, 3 implantacions vasculares, 2 febres d'origen desconegut (F.O.D.), 18 pròtesis de maluc, 27 pròtesis de genoll i la resta d'11 pacients en sospita d'infecció òssia en diverses localitzacions.

3.8.1.2. Hemograma complet i la viabilitat leucocitària

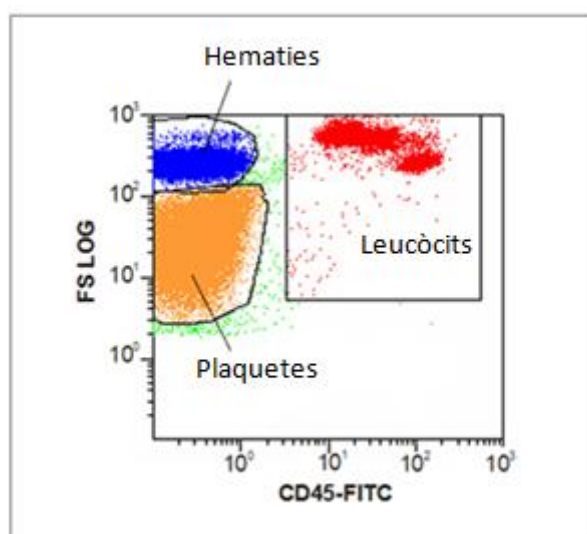
50 µl de la mostra es van pipetejar mitjançant la tècnica de pipeteig revers, amb 20 µl d'anticòs 7 - amino - actinimicina - D (7- AAD) que s'uneix a les cadenes ADN quan hi ha ruptura de la membrana per determinar l'apoptosi cel·lular ⁸² i amb 10 µl de Anticòs CD45 conjugat amb isocianat de fluoresceïna (FITC) que s'uneix a l'antigen leucocitari comú ⁸³ per a la correcta identificació dels leucòcits

(tots dos marcadors de Beckman - Coulter). La barreja es va incubar durant 20 minuts a temperatura ambient i en la foscor. En acabar es va resuspendre amb 1 mL de PBS i just abans de l'adquisició, utilitzant també la tècnica de pipeteig revers, es van afegir 50 µl d'una suspensió calibrada de microesferes (Perfect - Count microspherestm, de Cytognostm) per al recompte absolut de les cèl·lules analitzades ⁸⁴.

Immediatament després, es va realitzar l'adquisició en un citòmetre Cytomics FC500 (Beckman – Coulter) proveït amb un làser d'argó de 488 nm de longitud d'ona i diferents detectors per a les interaccions del làser amb la mostra. L'adquisició i anàlisi de les dades es va realitzar pel sistema Expo32 ADC (Beckman – Coulter). Cal esmentar abans de descriure el procediment de l'anàlisi de la mostra que es va verificar prèviament el calibratge del citòmetre amb fluor esferes marcades (Flow - check, Beckman - Coulter).

Es van adquirir 5×10^4 esdeveniments per al recompte de plaquetes, hematies i leucòcits i en un segon temps, un mínim de 1×10^4 esdeveniments per a l'estudi de la viabilitat dels leucòcits i per al recompte de les subpoblacions leucocitàries (limfòcits , monòcits i neutròfils). La combinació triada per diferenciar i quantificar les cèl·lules presents es mostra a la figura 13.

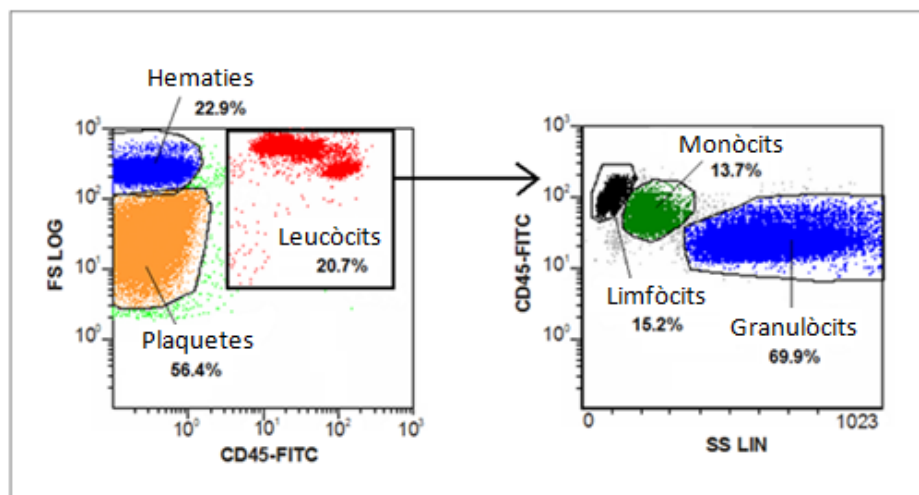
Figura 13 . Exemple de dot/plot triada per analitzar l'hemograma de la dosi.



Les hematies i leucòcits es van localitzar a la porció alta de l'escala FS mentre que les plaquetes van quedar per sota d'aquests, en ser de menor grandària. D'altra banda, els hematies i plaquetes (CD45-) es van localitzar a la porció baixa de l'eix d'abscisses respecte als leucòcits (CD45+) situats en la porció alta de la mateixa.

En la segona adquisició es van utilitzar una combinació entre els esdeveniments detectats en dispersió lateral a SS (estructura cel·lular) i els corresponents a la fluorescència amb CD45 (leucòcits). En aquest cas es va fer servir una live-gate o finestra per excloure els esdeveniments corresponents a plaquetes i hematies (CD45-) (Figura 14).

Figura 14. Gating practicat sobre la població dels leucòcits per al seu posterior anàlisi.

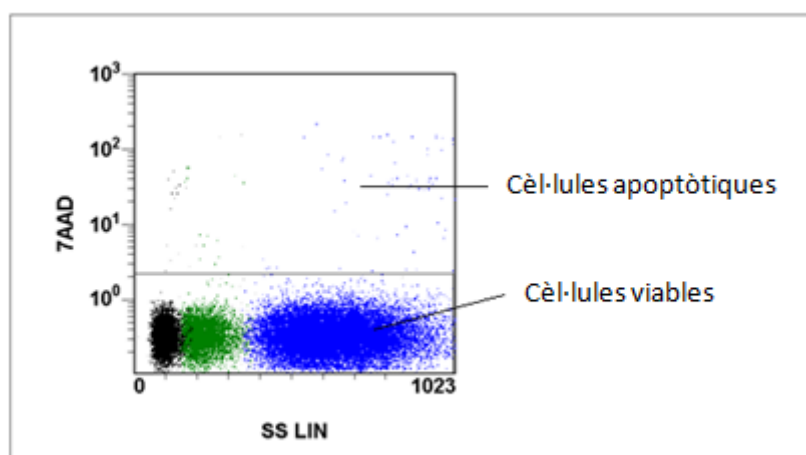


En la figura 14 els diferents tipus dels leucòcits (tots ells CD45 positius) van quedar agrupats en l'escala SS segons la seva complexitat interna: els limfòcits en la porció baixa, els monòcits en la porció intermèdia i els neutròfils en la porció alta.

Per a la viabilitat, s'ha utilitzat la combinació d'una escala lineal SS i una escala logarítmica per la fluorescència detectada amb 7 - ADD. Les cèl·lules viables van quedar agrupades a la zona baixa de les abscisses en ser 7 - ADD negatives,

mentre que les cèl·lules apoptòtiques van quedar en les porcions intermèdies i alta de la mateixa escala (Figura 15).

Figura 15. Exemple dot/plot utilitzat per la viabilitat leucocitària.



Finalment, els resultats es van expressar com el nombre d'esdeveniments de cada grup (o cèl·lules diana) per unitat de la mostra preparada i en els percentatges de cada grup respecte al total de cèl·lules analitzades en la mateixa figura.

Per obtenir el recompte absolut ⁸⁵, expressat en cèl·lules diana per unitat de volum de la dosi (µl), es va emprar i detectar una concentració calibrada i coneguda de les microesferes detectades en FL1 i FL2. A partir d'aquí, multiplicant el recompte absolut calculat de cada cèl·lula diana analitzada pel volum de la dosi expressat en µl, es va obtenir el nombre total de cada tipus cel·lular present en la dosi del pacient.

3.8.2. Grup II

En aquest grup, es va practicar una determinació de la distribució de l'activitat radioactiva a la dosi i la puresa del radiofàrmac ^{99m}Tc-HMPAO. (Grup II de l'estudi).

3.8.2.1. Població estudi grup II

La mostra de pacients va estar conformada per 101 pacients (52 dones) de 61,6 (SD: 22,5) anys afectats de diverses patologies inflamatòries i infeccioses: 9 Colitis ulcerosa, 6 Crohn, 6 intervencions quirúrgiques als vasos, 2 F.O.D., 12 pròtesis de maluc, 26 pròtesis de genoll i una miscel·lània de 30 pacients amb sospita infecciosa a diferents llocs del seu esquelet ossi.

3.8.2.2. Distribució de l'activitat radioactiva a la dosi

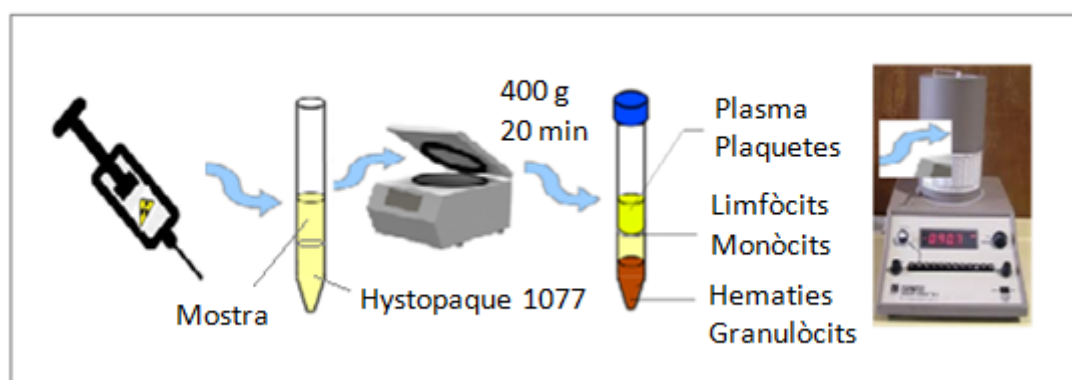
En aquest cas, per identificar els percentatges de ^{99m}Tc lligat al plasma, plaquetes, hematies, limfòcits i neutròfils en les dosis es va aplicar una tècnica de centrifugació en gradients de solubilitat diferents de la mostra i es va determinar el percentatge de radioactivitat mesurada a cada fracció ⁸⁶.

El procediment va ser el següent: Una alíquota amb un mínim d'activitat de 100 μCi (3,7 MBq) de la dosi es va diluir fins a 5ml amb plasma no radioactiu obtingut en el procediment del marcatge i que contenia restes d'expansor de les hematies. D'aquesta suspensió recent preparada, 3 ml varen ser afegits damunt de 3 ml de solució Hystopaque 1077 (Histopaque®, Sigma. Barcelona, Spain) i es van centrifugar durant 20 minuts a 400g. Amb aquest procediment s'observà un anell i un precipitat separats per fraccions líquides. A la primera fracció líquida superior es van localitzar les plaquetes i el plasma, a l'anell a continuació, els limfòcits i monòcits, la fracció següent va ser indeterminada i al precipitat restant els granulòcits i hematies presents. Per una nova centrifugació de la primera fracció líquida es va separar el plasma de les plaquetes. Per una hemòlisi del precipitat amb 3 ml de H_2O per a injectables i posterior centrifugació durant 5 minuts a 200 g es van separar els hematies dels granulòcits ⁸⁷.

A la bibliografia es descriu un altre mètode utilitzant dos solucions de densitat diferent per separar els granulòcits de les hematies. En el nostre cas no es va poder reproduir aquest sistema ja que la mostra utilitzada no tenia la mateixa

densitat de la sang total i s'optà per utilitzar només una sola densitat. La radioactivitat es mesurà en MBq per lectura directa de cada fracció obtinguda, a l'activímetre (CAPINTEC - CRC7, Madrid, Spain) a la finestra del ^{99m}Tc . Un esquema del procediment utilitzat es detalla a la figura 16.

Figura 16. Esquema del procediment realitzat per obtenir el fraccionament i comptatge dels components marcats ala dosi.



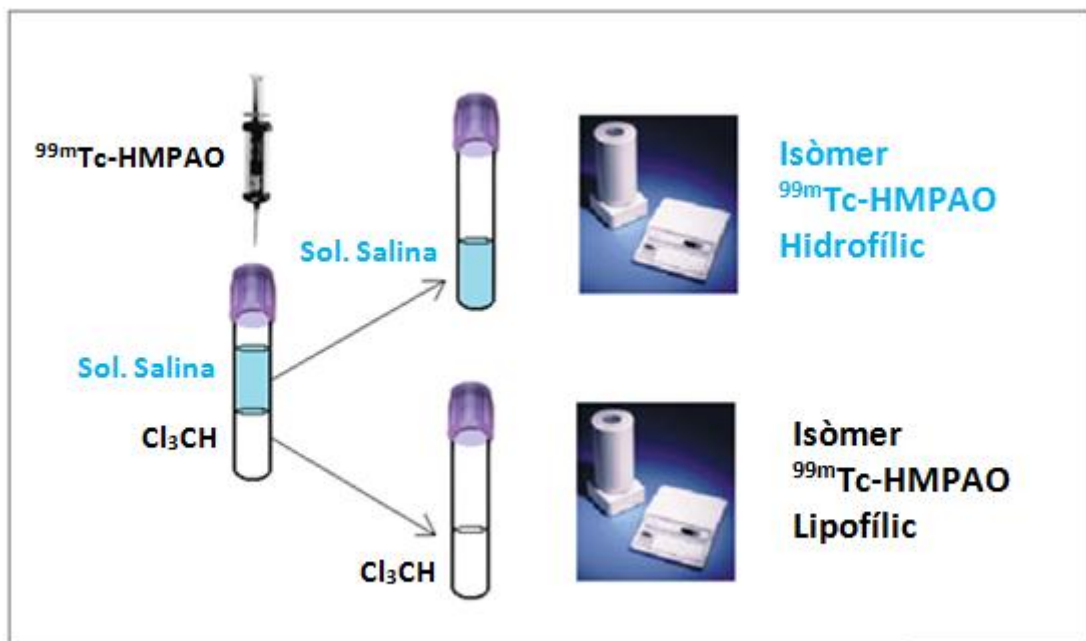
3.8.2.3. Procediment per a la determinació de la puresa del ^{99m}Tc -HMPAO

Aquest control es va realitzar aprofitant les característiques lipofíliques i hidrofíliques dels dos isòmers presents en la forma química del preparat ⁸⁸.

Com a reactiu s'emprà una solució immiscible de 3 ml de solució salina fisiològica i 3ml de cloroform preparats prèviament en un tub amb tap perforable. Una petita mostra (0,1ml) d'una preparació extemporània recentment preparada del ^{99m}Tc -HMPAO, s'injectà al tub reactiu, s'agità vigorosament per homogeneïtzar la mostra i s'esperà a la separació de nou de les fases immiscibles del reactiu. A la fase salina es va localitzar l'isòmer hidrofílic del ^{99m}Tc -HMPAO mentre que l'isòmer lipofílic es va trobar a la fase clorofòrmica ⁸⁹.

Es van separar les dues fraccions obtingudes i la radioactivitat de cada fracció es mesurà en MBq per lectura directa de cada fracció obtinguda, a l'activímetre (CAPINTEC - CRC7, Madrid, Spain) a la finestra del ^{99m}Tc (Figura 17).

Figura 17. Esquema del procediment realitzat per determinar puresa ^{99m}Tc -HMPAO.



La puresa del preparat s'expressa en el percentatge obtingut a la fase clorofòrmica respecte al total de la radioactivitat de la mostra (fase salina + fase clorofòrmica).

3.8.3. Grup III

En aquest grup es va practicar una determinació per a la localització de la dosi en els pacients a l'abdomen i als genolls. A la seva vegada es van conformar dos subgrups segons la localització de la detecció, una per a l'abdomen i un altre per als genolls.

3.8.3.1. Població estudi grup III

Va ser conformada per un total de 124 pacients que es van agrupar en dos subgrups diferents. Les diverses patologies inflamatòries i infeccioses que presentaven es detallen per a cada subgrup.

3.8.3.1.1. Població subgrup IIIA

Aquest subgrup estava conformat per 84 pacients (43 dones) de 56,7 (SD:19,8) anys, afectats de diverses patologies inflamatòries i infeccioses: 23 Colitis Ulcerosa, 12 Crohn, 10 post intervenció quirúrgica als vasos, 1 F.O.D., 32 pròtesis de maluc, 4 de genoll i una miscel·lània restant de 3 casos més de patologia òssia.

3.8.3.1.2. Població subgrup IIIB

Aquest subgrup estava conformat per 48 pacients (26 dones) de 76,7 (SD:11,8) anys, afectades de diverses patologies inflamatòries i infeccioses: (3 colitis ulceroses, 3 pròtesis de maluc , 27 pròtesis de genoll i una miscel·lània d'11 casos d'afectació òssia diversa.

3.8.3.2. Procediment realitzat al grup III

L'estudi es va dur a terme sobre les darreres imatges gammagràfiques planars de les projeccions anteriors obtingudes a l'abdomen i genolls dels pacients. El motiu principal va ser fer més evident el manteniment del funcionalisme dels leucòcits marcats, així com la possible interferència dels altres components marcats romanents en el cos del pacient ⁹⁰.

Es van dissenyar les zones d'estudi més representatives de les localitzacions dels components de la dosi i, a la vegada, que fossin més excloents les unes de les altres. Les àrees triades van ser les corresponents als ossos, grans vasos i teixit muscular ⁹¹.

Se'ls va realitzar deteccions gammagràfiques en un sol pla localitzades en les àrees abdominals i genolls amb gammacàmeres SIEMENS e CAM® de doble

capçal (Siemens, Erlangen, Alemanya) amb col·limadors de baixa energia i alta resolució (Figura 18).

Figura 18. Detall de la gammacàmera Siemens e CAM® de doble capçal emprada a l'estudi.

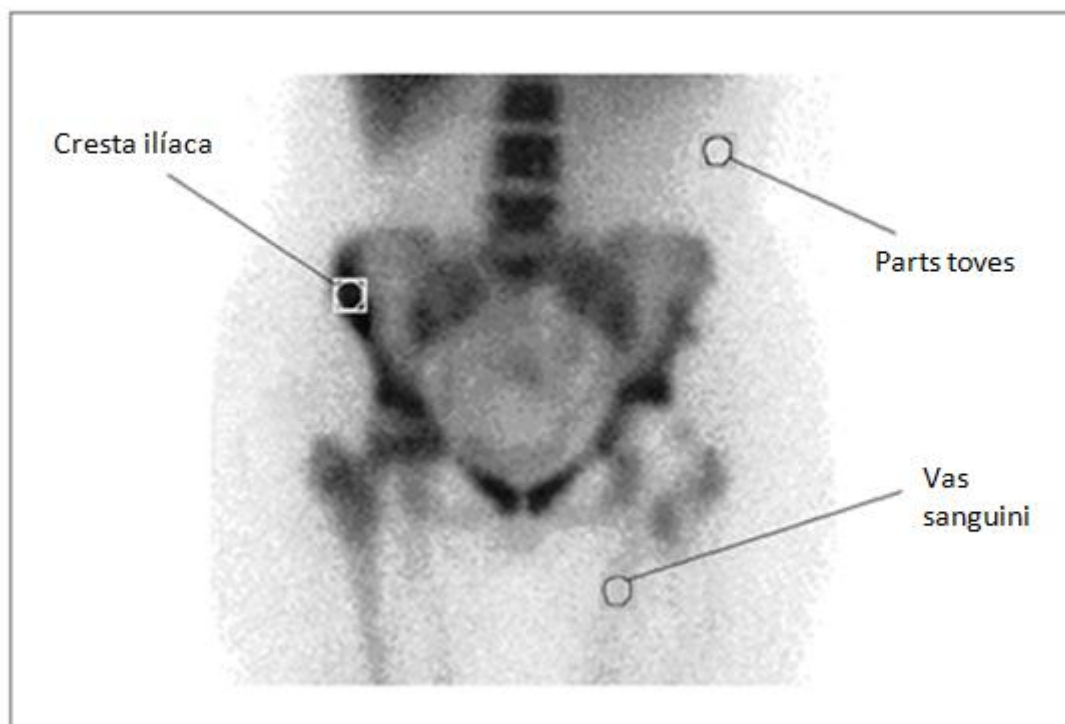


A cada imatge obtinguda es va delimitar una petita àrea ROI de 100 píxels aproximadament que es va traslladar sobre cadascuna de zones descrites per a la seva quantificació en comptes⁹². Es va emprar la mateixa petita àrea ROI per evitar la contaminació amb altres estructures afins i per evitar fonts d'errors.

3.8.3.2.1. Detecció abdominal

Sobre cada imatge obtinguda en la projecció anterior de l'abdomen, les àrees ROI es van localitzar a cresta ilíaca, venes ilíaqües o parts toves (Figura 19).

Figura 19. Imatge que mostra com la mateixa àrea ROI es va situar damunt la cresta ilíaca, vasos i part toves.



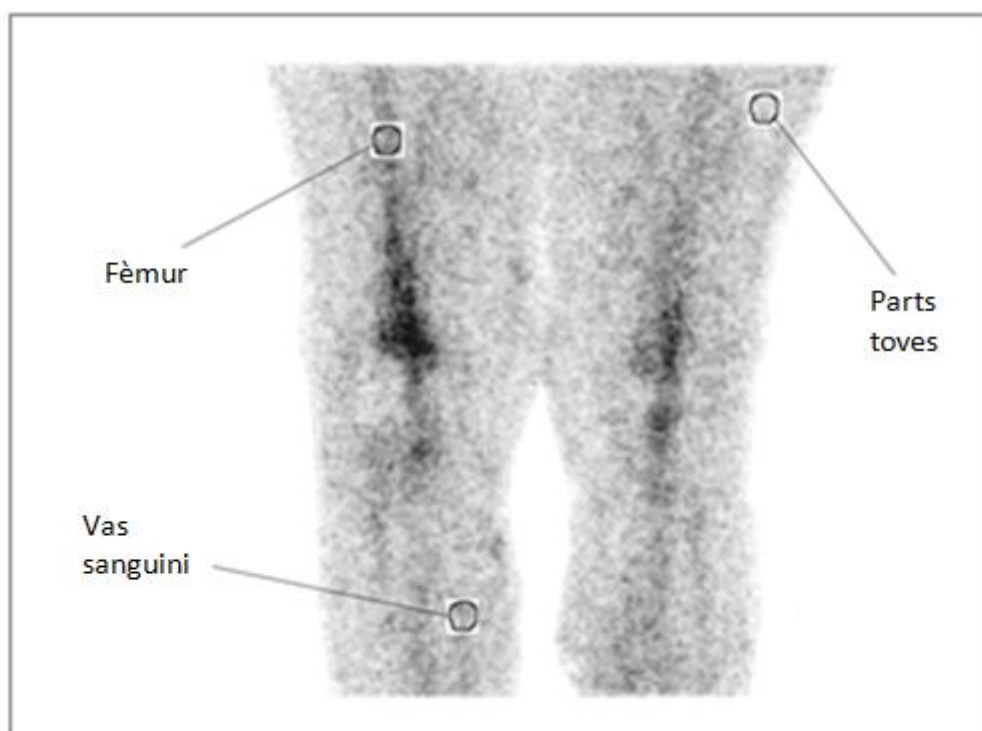
Es va triar la localització òssia de les crestes ilíaques amb la finalitat d'obtenir una localització dels leucòcits marcats administrats, capaç de demostrar la integritat del seu funcionalisme en ocupar el mateix l'espai del sistema fagocític mononuclear que ocuparien en condicions normals ⁹³. A part, una altra avantatge va ser la proximitat del detector que ens assegurava un major nombre de comptes en la detecció.

Respecte a la detecció en àrees vasculars, s'esperava contrastar la persistència d'activitat com indicació romanent dels altres components marcats a la dosi, com els hematies i l'elució del ^{99m}Tc procedent de les cèl·lules marcades. Finalment, per contrastar millor aquestes localitzacions es pretenia avaluar la detecció a teixits poc vascularitzats, com indicador de l'entramat de vasos capil·lars comuns a totes les àrees i per dur a terme una correcció de fons romanent a les àrees estudiades.

3.8.3.2.2. Detecció als genolls

Sobre cada imatge obtinguda en la projecció anterior centrada en els genolls, les àrees ROI es van localitzar als ossos llargs (fèmur o tibia), vasos sanguinis (venes safenes) i parts toves corresponents a teixit muscular (Figura 20) .

Figura 20. Imatge que mostra com la mateixa àrea ROI es va situar damunt el fèmur, vasos i part toves.



La detecció al fèmur i/o tibia distal, va ser per contrast, per evidenciar una menor captació dels leucòcits marcats, en tractar-se d'una zona empobrida en el sistema fagocític mononuclear ⁹⁴.

Respecte a la detecció en àrees vasculars s'esperà, al igual que en la detecció abdominal, contrastar la persistència d'activitat com indicació romanent dels altres components marcats a la dosi com els hematies i l'elució del ^{99m}Tc procedent de les cèl·lules marcades.

Finalment, per el mateix motiu que en el cas de les imatges abdominals per contrastar millor aquestes localitzacions es pretenia avaluar la detecció a teixits poc vascularitzats, com indicador de l'entramat de vasos capil·lars comuns a totes les àrees i per dur a terme una correcció de fons romanent a les àrees estudiades.

3.8.4. Grup global

El conformen la totalitat dels pacients estudiats amb ^{99m}Tc -HMPAO marcant els seus propis leucòcits en l'estudi de les seves patologies inflamatòries i infeccioses i aquí se'ls hi va realitzar els controls de qualitat proposats com a nova estratègia de qualitat de forma separada com s'ha detallat fins ara.

3.9. Tractament estadístic de les dades

L'anàlisi estadística es va realitzar amb el programa SPSS per a Windows, versió 15 (SPSS Inc, Chicago), i Sata / IC 13. Es va considerar un valor de $p < 0.05$ com estadísticament significatiu.

Es va utilitzar la prova de Kolmorov-Smirnov (prova K-S) per provar les variables de distribució normal. Les variables contínues i amb distribució normal es presenten com a mitjana \pm desviació estàndard (SD) amb valors de rang, mentre que les variables contínues que mostren la distribució asimètrica es presenten com mediana amb valors de quartils 25 i 75 o de rang (min - max).

La concordança de l'efectivitat diagnòstica final entre la mostra total i per a cada un dels tres grups es va establir mitjançant l'acord global i l'índex kappa. A més a més es va aplicar el test de Mann Whitney per establir diferències significatives.

3.10. Interpretació dels resultats

Per avaluar la utilitat de la nova estratègia establerta amb els controls establerts i maneig de les dades obtingudes es mostra una descripció del resultat segon com s'han anat estudiant.

En primer lloc, s'ha fet una comparació entre la població de gammagrafies positives respecte a les negatives per determinar l'impacte en el dia a dia de l'exploració.

En segon lloc, conegut i verificat el resultat clínic, es va fer una anàlisi descriptiva de cada indicador.

Finalment per avaluar desviacions metodològiques es van comparar les dades corresponents al veredictes clínics finals veritables i falsos.

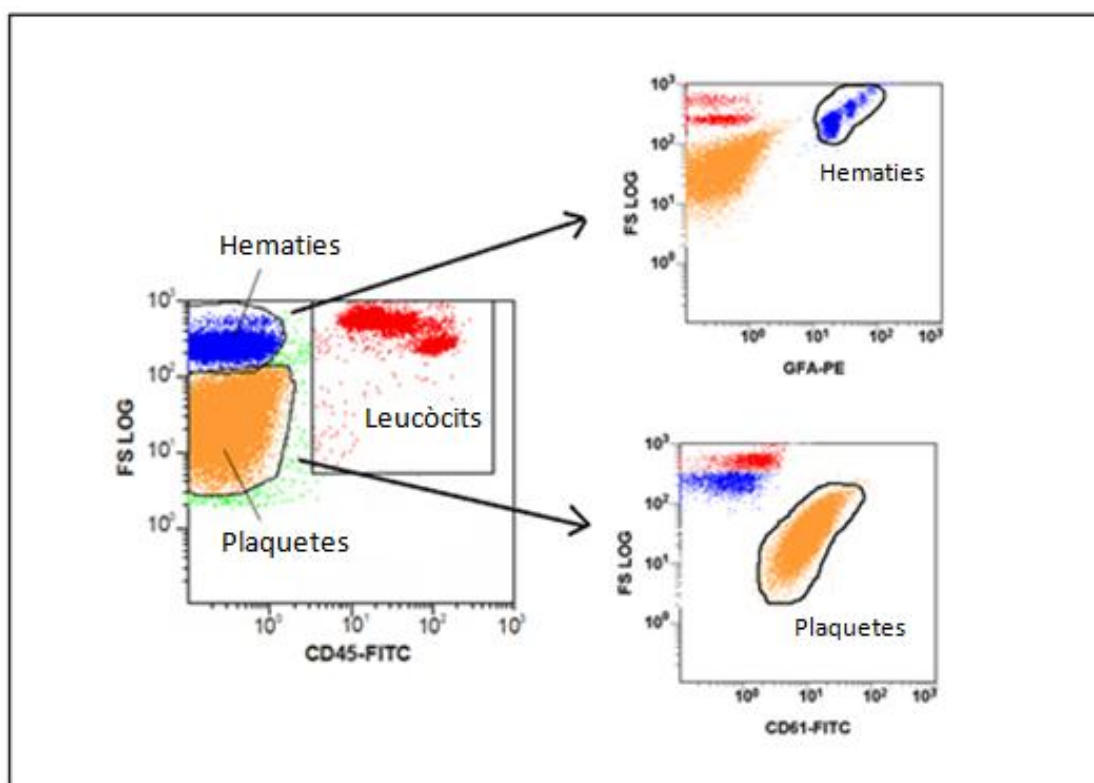
4. RESULTATS

4.1. Validació de la nova aplicació de la citometria de flux multi paramètrica

4.1.1. Selectivitat

A partir de les poblacions seleccionades de les hematies i plaquetes analitzades en el dot/plot per el CD45 es van verificar i quantificar segons la seva detecció en els seus marcadors específics. La glicoforina – A (GFA o CD235a) per a les hematies i CD61 per a les plaquetes. Els dot/plots emprats es detallen a la figura 21.

Figura 21. Exemple dels dot/plots emprats en la determinació de la selectivitat avaluada.



La quantificació es va realitzar de manera automàtica en el mateix citòmetre per lectura directa de la població seleccionada, i a més va ser verificada de manera manual tal i com es detalla a la taula 5.

Taula 5. Quantificació a les àrees de les hematies i plaquetes en el dot/plot emprant la detecció de CD45 i la seva verificació de la mateixa àrea en el seu marcador específic.

| Selectivitat | Hematies | | | Plaquetes | | | |
|--------------|-----------|---------|---------|-----------|----------|---------|------|
| | Mostra | CD45 | CD235a | % | CD45 | CD61 | % |
| | 1 | 30157 | 29990 | 99,4 | 62231 | 58998 | 94,8 |
| | 2 | 97147 | 96215 | 99,0 | 255667 | 243944 | 95,4 |
| | 3 | 57035 | 56035 | 98,2 | 142051 | 138000 | 97,1 |
| | 4 | 78100 | 77980 | 99,8 | 155368 | 151800 | 97,7 |
| | 5 | 71497 | 71350 | 99,8 | 227881 | 221189 | 97,1 |
| | 6 | 69162 | 68589 | 99,2 | 133837 | 133338 | 99,6 |
| | 7 | 105706 | 104508 | 98,9 | 108810 | 105000 | 96,5 |
| | 8 | 64868 | 64800 | 99,9 | 77542 | 75555 | 97,4 |
| | 9 | 111242 | 110133 | 99,0 | 174005 | 173890 | 99,9 |
| | 10 | 97953 | 97600 | 99,6 | 71335 | 69995 | 98,1 |
| | \bar{X} | 78286,7 | 77720,0 | 99,3 | 140872,7 | 137171 | 97,4 |
| | SD | 25073,0 | 24821,2 | 0,5 | 65120,2 | 62798,0 | 1,6 |

Una selectivitat de 99,3 % (SD:0,48; rang de 99,0-99,9 %) es va obtenir per als glòbuls vermells i de 97,4% (SD: ,2%; rang de 94,8-99,9 %) per a les plaquetes.

4.1.2. Precisió

4.1.2.1. Repetibilitat

La precisió del mètode determinada per mitjà del coeficient de variació (CV) de cada tipus de cèl·lules analitzades en tres mostres amb 10 replicats, com s'havia descrit a la metodologia, es detalla per als valors absoluts a la taula 6 i en percentatges a la taula 7.

Taula 6. Hemograma de la dosi, calculat en cèl·lules absolutes.

| | Hematies | | | Plaquetes | | | Leucòcits | | |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|----------|----------|
| | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 |
| | 57168 | 59305 | 76186 | 122666 | 23550 | 147252 | 36875 | 34386 | 47671 |
| | 57342 | 59432 | 76125 | 123666 | 23505 | 146822 | 36775 | 34343 | 47475 |
| | 58639 | 59549 | 76095 | 124518 | 23530 | 146558 | 36095 | 34241 | 47556 |
| | 56570 | 59529 | 75955 | 120518 | 23525 | 146635 | 37669 | 34423 | 47587 |
| | 59068 | 59461 | 76215 | 122166 | 23509 | 147525 | 37180 | 34463 | 47585 |
| | 49062 | 53813 | 65684 | 93184 | 20410 | 119818 | 32665 | 31786 | 43501 |
| | 48888 | 53686 | 65745 | 92182 | 20455 | 120248 | 32765 | 31829 | 43697 |
| | 47591 | 53569 | 65775 | 91330 | 20430 | 120512 | 33445 | 31931 | 43616 |
| | 49660 | 53589 | 65915 | 95330 | 20435 | 120435 | 31871 | 31749 | 43585 |
| | 47162 | 53657 | 65655 | 93682 | 20451 | 119545 | 32360 | 31709 | 43587 |
| \bar{x} | 53115 | 56559 | 70935 | 107924 | 21980 | 133535 | 34770 | 33086 | 45586 |
| SD | 4993 | 3054 | 5461 | 15648 | 1627 | 14155 | 2329 | 1357 | 2097 |
| CV | 9,4 | 5,4 | 7,7 | 14,5 | 7,4 | 10,6 | 6,7 | 4,1 | 4,6 |

Taula 7. Hemograma de la dosi, calculat i expressat en percentatges.

| | Hematies (%) | | | Plaquetes (%) | | | Leucòcits (%) | | |
|-----------|--------------|----------|----------|---------------|----------|----------|---------------|----------|----------|
| | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 |
| | 27,1 | 49,7 | 28,3 | 56,6 | 20,1 | 55,1 | 17 | 28,8 | 17,3 |
| | 26,3 | 49,3 | 28,2 | 57,8 | 20 | 54,3 | 16,9 | 30,7 | 17,6 |
| | 26,9 | 49,6 | 28,2 | 57,7 | 20,1 | 55 | 16,5 | 28,9 | 17,4 |
| | 27 | 50,7 | 28,4 | 54 | 20,4 | 54,3 | 17,5 | 28,7 | 17,6 |
| | 27 | 50,6 | 28,5 | 57 | 20,2 | 54,6 | 17,3 | 28,5 | 17,5 |
| | 27,6 | 49,7 | 28,5 | 53,3 | 19,3 | 52,3 | 18,7 | 30,9 | 19,3 |
| | 27,7 | 49,9 | 28,4 | 56 | 19,3 | 52,1 | 17,7 | 31,7 | 19 |
| | 27,6 | 48,9 | 28,6 | 52,5 | 19,4 | 52 | 18,5 | 28,9 | 19,2 |
| | 27,5 | 49,6 | 28,7 | 53,9 | 19,3 | 54,9 | 18,2 | 31,6 | 19 |
| | 27,2 | 49,8 | 28,3 | 53 | 19,3 | 52,3 | 18,4 | 31,3 | 19,1 |
| \bar{x} | 27,2 | 49,8 | 28,4 | 55,2 | 19,7 | 53,7 | 17,7 | 30 | 18,3 |
| SD | 0,4 | 0,5 | 0,2 | 2 | 0,5 | 1,3 | 0,8 | 1,3 | 0,9 |
| CV | 1,5 | 1,1 | 0,6 | 3,7 | 2,3 | 2,5 | 4,3 | 4,5 | 4,7 |

A les taules 8 i 9 es detallen les valors obtinguts per a la població leucocitària present a la dosi, expressats en cèl·lules absolutes i percentatges.

Taula 8. Poblacions leucocitàries presents a la dosi expressades en cèl·lules absolutes.

| | Limfòcits | | | Monòcits | | | Neutròfils | | |
|-----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|------------|----------|----------|
| | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 |
| | 5045 | 11206 | 13714 | 2717 | 9211 | 5014 | 27965 | 12386 | 26808 |
| | 4578 | 10178 | 12056 | 2718 | 9176 | 4523 | 27975 | 12011 | 26826 |
| | 5003 | 11246 | 13789 | 2712 | 9189 | 5337 | 27770 | 12347 | 24788 |
| | 5078 | 10276 | 13711 | 2711 | 9438 | 5011 | 27875 | 12393 | 26806 |
| | 5012 | 11198 | 13980 | 2715 | 9987 | 5234 | 27925 | 12397 | 24609 |
| | 4521 | 10976 | 12078 | 2499 | 9534 | 4470 | 24885 | 12022 | 25002 |
| | 5023 | 10876 | 12089 | 2498 | 9077 | 4460 | 24875 | 12560 | 25506 |
| | 4678 | 10008 | 13780 | 2504 | 9871 | 4503 | 25080 | 11541 | 24567 |
| | 4533 | 10877 | 13547 | 2505 | 9346 | 5511 | 24975 | 12496 | 25510 |
| | 4563 | 10080 | 12245 | 2501 | 9993 | 4489 | 24925 | 12491 | 24665 |
| \bar{x} | 4803,4 | 10692,1 | 13098,9 | 2608 | 9482,2 | 4855,2 | 26425 | 12264,4 | 25508,7 |
| SD | 246 | 501 | 853 | 112 | 351 | 412 | 1559 | 315 | 960 |
| CV | 5,1 | 4,7 | 6,5 | 4,3 | 3,7 | 8,5 | 5,9 | 2,6 | 3,8 |

Taula 9. Poblacions leucocitàries presents a la dosi expressades en percentatges.

| | Limfòcits (%) | | | Monòcits (%) | | | Neutròfils (%) | | |
|-----------|---------------|----------|----------|--------------|----------|----------|----------------|----------|----------|
| | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 |
| | 14 | 31,3 | 37,7 | 7,5 | 27,6 | 15,9 | 75,2 | 79,4 | 74,8 |
| | 13 | 31,3 | 40,2 | 7,6 | 24,8 | 13,7 | 76,1 | 78,4 | 81,6 |
| | 14,3 | 31,7 | 37,1 | 7,6 | 27,3 | 13,9 | 74,6 | 78,3 | 74,1 |
| | 13,3 | 31,7 | 37,5 | 7,4 | 27,2 | 13,7 | 75,2 | 78,3 | 75,3 |
| | 14,4 | 31,6 | 37,4 | 7,5 | 24,5 | 14 | 74,6 | 78,4 | 81,4 |
| | 13,3 | 31,3 | 40,6 | 7,8 | 25,8 | 15,5 | 76,4 | 78 | 81,9 |
| | 13,6 | 31,2 | 40,8 | 7,9 | 25,5 | 13,8 | 75,5 | 76 | 75,8 |
| | 13,4 | 30,8 | 39,1 | 7,9 | 25,1 | 15,5 | 76,1 | 78,1 | 74,3 |
| | 13,2 | 30,7 | 37,2 | 7,8 | 24,7 | 14,5 | 75,1 | 78 | 75,7 |
| | 14,4 | 31 | 40,5 | 7,9 | 27,5 | 15,4 | 77,1 | 77,9 | 81,7 |
| \bar{x} | 13,7 | 31,3 | 38,8 | 7,7 | 26 | 14,6 | 75,6 | 78,1 | 77,7 |
| SD | 0,5 | 0,4 | 1,6 | 0,2 | 1,3 | 0,9 | 0,8 | 0,8 | 3,5 |
| CV | 3,9 | 1,1 | 4,1 | 2,5 | 4,9 | 6,1 | 1,1 | 1,1 | 4,5 |

Els resultats de la viabilitat leucocitària es va expressar només en percentatges per ser la forma habitual de ser expressada (Taula 10) en les 10 determinacions per mostra realitzada en 3 pacients.

Taula 10. Resultats dels valors obtinguts de la viabilitat leucocitària.

| Viabilitat % | | | |
|---------------------|----------|----------|----------|
| | mostra 1 | mostra 2 | mostra 3 |
| | 98,1 | 98,5 | 97,3 |
| | 98,2 | 97,2 | 97,5 |
| | 97,9 | 98,9 | 99,2 |
| | 97,9 | 98,8 | 97,4 |
| | 98,2 | 98,2 | 98,2 |
| | 98,3 | 98,6 | 99,3 |
| | 98,2 | 98,0 | 97,7 |
| | 97,9 | 98,5 | 98,8 |
| | 98,3 | 98,7 | 97,7 |
| | 98,2 | 98,8 | 97,5 |
| \bar{x} | 98,1 | 98,4 | 98,1 |
| SD | 0,2 | 0,5 | 0,8 |
| CV | 0,2 | 0,5 | 0,8 |

Un compendi de totes aquestes dades queden resumides a la taula 11.

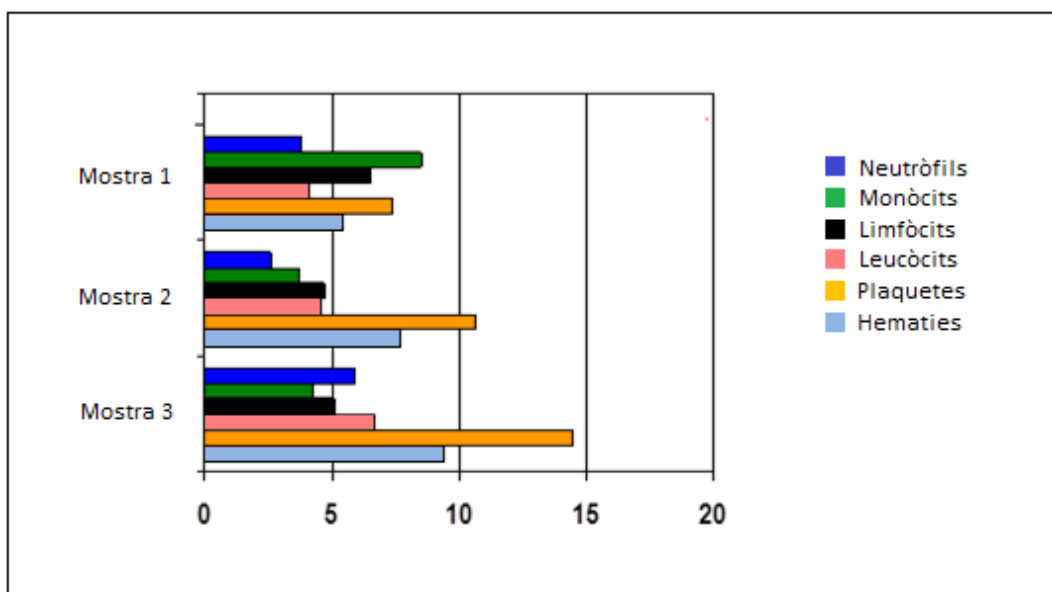
Taula 11. Valors obtinguts segon el sistema de mesura practicat per avaluar la repetibilitat de la mostra analitzada.

| Hemograma | CV percentatge cel·lular | | | CV cèl·lules absolutes | | |
|------------------|---------------------------------|----------|----------|-------------------------------|----------|----------|
| | Mostra 1 | Mostra 2 | Mostra 3 | Mostra 1 | Mostra 2 | Mostra 3 |
| Hematies | 1,5 | 1,1 | 0,6 | 9,4 | 7,7 | 5,4 |
| Plaquetes | 3,7 | 2,3 | 2,5 | 14,5 | 10,6 | 7,4 |
| Leucòcits | 4,3 | 4,6 | 4,7 | 6,7 | 4,6 | 4,1 |
| Limfòcits | 3,9 | 1,4 | 4,1 | 5,1 | 4,7 | 6,5 |
| Monòcits | 2,5 | 4,9 | 6,1 | 4,3 | 3,7 | 8,5 |
| Neutròfils | 1,3 | 1,1 | 4,5 | 5,9 | 2,6 | 3,8 |
| Viabilitat | 0,2 | 0,5 | 0,8 | ND | ND | ND |

ND: No Determinat
CV: Coeficient de variacions

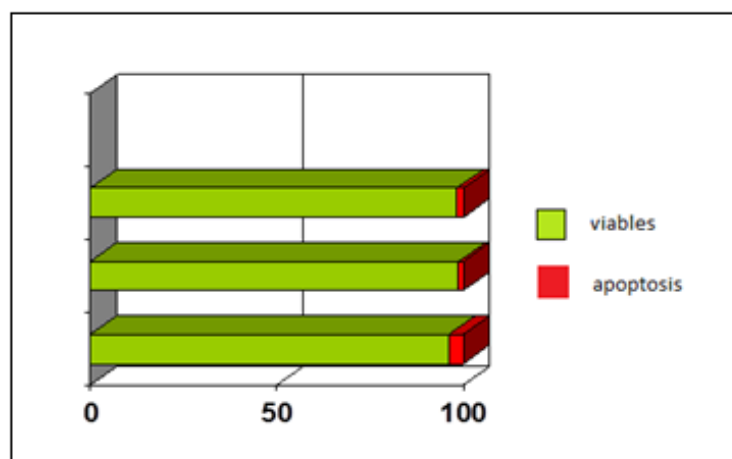
Considerant els rangs de valors precisos els expressat amb un $CV \leq 8\%$ (acceptable: $CV 8\% -14\%$, regular $CV 15\% -20\%$, i imprecís $CV > 20\%$, va resultar que el mètode era més precís ($CV \leq 7\%$) quan els resultats s'expressaven en percentatge cel·lular tot i ser acceptable ($CV \leq 14\%$) per als recomptes de cèl·lules absolutes (Figura 22).

Figura 22. Representació gràfica dels CV obtinguts a la repetibilitat.



Respecte a la viabilitat leucocitària, els valors obtinguts van ser els esperats amb un valor promig del 98,1 % (SD:0,9%), com es detalla a la figura 23.

Figura 23. Representació gràfica de la viabilitat leucocitària.



4.1.2.2. Reproductibilitat

Els resultats obtinguts del CV promig de cada mostra i per a cada variable determinat en 21 mostres consecutives a dies alterns es detalla a la taula 12.

Taula 12. CV obtinguts en 21 mostra per al càlcul de la reproductibilitat.

| mostra | Hematies | Plaquetes | leucòcits | limfòcits | monòcits | neutròfils |
|----------------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|------------|
| 1 | 10,2 | 25,5 | 6,2 | 2,4 | 6 | 3 |
| 2 | 5,4 | 9 | 0,4 | 3,3 | 1,9 | 4,1 |
| 3 | 2,7 | 3,4 | 3,4 | 3,2 | 1,9 | 2,2 |
| 4 | 8,6 | 12 | 2,1 | 2,4 | 2,9 | 1,9 |
| 5 | 15,8 | 14,7 | 15,5 | 9,9 | 1,6 | 22,2 |
| 6 | 14,5 | 16,3 | 27,2 | 7 | 5,2 | 3,1 |
| 7 | 7,2 | 5,8 | 5,9 | 16,2 | 11 | 12,3 |
| 8 | 11,1 | 15,3 | 7,3 | 9,5 | 36,8 | 4,7 |
| 9 | 6 | 2 | 5,6 | 6,6 | 36,8 | 4,7 |
| 10 | 3,6 | 5,5 | 0,2 | 3 | 2,4 | 1,8 |
| 11 | 11 | 5 | 4,9 | 2,6 | 3,9 | 3,3 |
| 12 | 8,8 | 10 | 8,6 | 12,6 | 16,2 | 12,7 |
| 13 | 8 | 7,3 | 10,3 | 13,3 | 13,3 | 11,1 |
| 14 | 3,6 | 4,8 | 0,9 | 7,2 | 5,4 | 3,1 |
| 15 | 6,9 | 6,3 | 5 | 1,4 | 1,6 | 1,6 |
| 16 | 5 | 3,3 | 5,3 | 3 | 5,4 | 4,1 |
| 17 | 3,1 | 3,9 | 3,2 | 5 | 8,1 | 6,7 |
| 18 | 4,2 | 3,9 | 4,5 | 2,3 | 3,6 | 3,2 |
| 19 | 2,3 | 0,6 | 1,8 | 4,7 | 2,9 | 2,7 |
| 20 | 4,3 | 3,1 | 4,5 | 5,2 | 4,4 | 4,3 |
| 21 | 3,4 | 4,7 | 3,4 | 6,8 | 3,1 | 2,4 |
| min | 2,7 | 2 | 0,2 | 2,3 | 1,6 | 1,6 |
| max | 15,8 | 25,5 | 27,2 | 16,2 | 36,8 | 22,2 |
| mitjana | 6 | 5,5 | 4,9 | 5 | 4,4 | 3,3 |
| Q1 | 3,6 | 3,9 | 3,2 | 3 | 2,9 | 2,7 |
| Q3 | 8,8 | 10 | 6,2 | 7,2 | 8,1 | 4,7 |

A la taula es descriuen encerclats els valors considerats atípics. A la vista del resultat, tots els valors mitjans de CV per a cada tipus de cèl·lula es van considerar precisos ($\leq 8\%$).

Pel que fa a la correlació dels valors obtinguts, considerant baix si el seu valor oscil·lava entre 0,2 i 0,4; moderat entre 0,41-0,79; i alt entre 0,8-0,9; tots els valors obtinguts del coeficient de correlació intraclasse (ICC), per a cada tipus de cèl·lula van ser molt concordants ($p < 0,001$) i no hi va haver diferències significatives entre les taxes d' ICC.

Per tal de destacar el rigor de la metodologia proposada, els resultats de la CV van ser estimats com a percentatges, d'acord amb els límits de precisió establerts de 7, 10 i 14 %.

Els resultats obtinguts compendi de totes les determinacions anteriors es detallen a la taula 13.

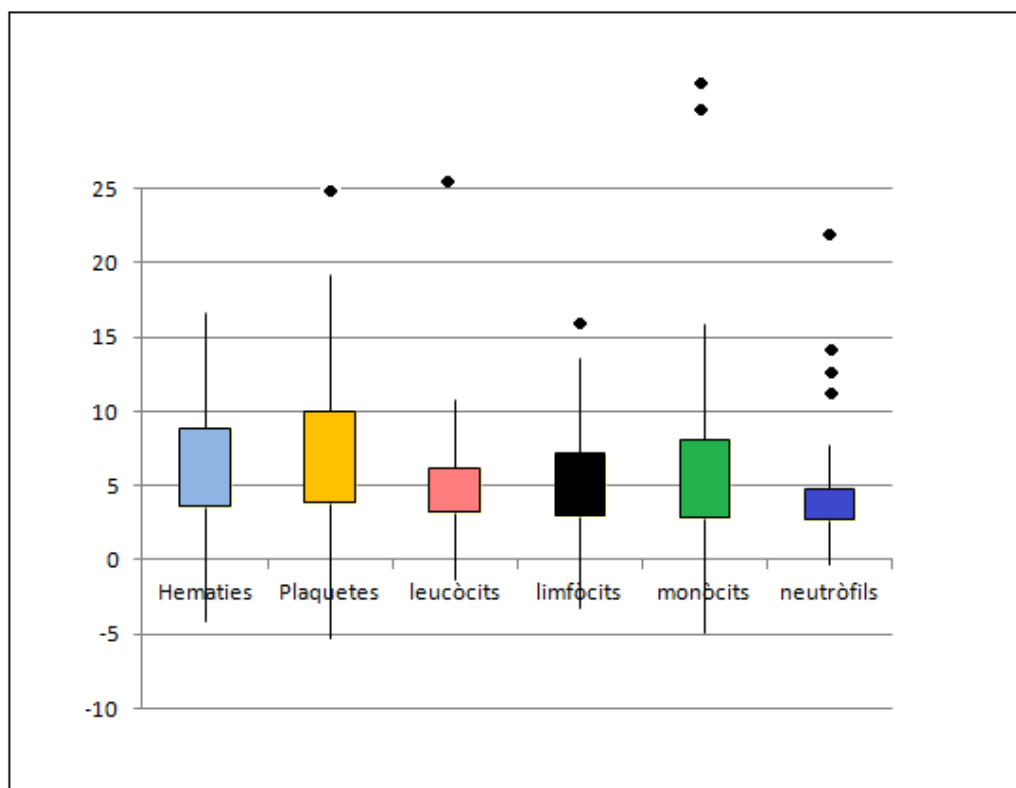
Taula 13. Precisió de la reproductibilitat.

| Hemograma | Cèl·lules absolutes | | | | |
|------------|---------------------|---------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | ICC (IC95%) | CV (IC95%) | CV ($\leq 7\%$) | CV ($\leq 10\%$) | CV ($\leq 14\%$) |
| Hematies | 0,97 (0,72-0,99) | 6,9 (5,4-9,1) | 61,9 | 81,0 | 90,5 |
| Plaquetes | 0,94 (0,82-0,98) | 8,1 (5,1-11) | 66,7 | 81,0 | 85,7 |
| Leucòcits | 0,98 (0,91-0,99) | 6,2 (3,2-9,2) | 81,0 | 85,7 | 85,7 |
| Limfòcits | 0,98 (0,9-0,99) | 6,3 (4,3-8,4) | 76,2 | 85,7 | 95,2 |
| Monòcits | 0,99 (0,97-0,99) | 8,6(3,4-3,7) | 71,4 | 76,2 | 85,7 |
| Neutròfils | 0,99 (0,97-0,99) | 5,5 (2,9-8,1) | 85,7 | 90,5 | 95,2 |

CV: Coeficient de variació
ICC: Coeficient de correlació Intra-classe

La representació gràfica dels valors de CV dels paràmetres estudiats en quartils a on es pot apreciar que tots els valors de CV obtinguts per al tercer quartil no superen un valor del 10 %, es presenta a la figura 24.

Figura 24. Box/plot per a la representació valors quartils Q1 i Q3, límits inferiors i superiors i valors atípics dels coeficients de variació de la reproductibilitat.



4.2. Utilitat de l'estratègia de qualitat instaurada

Donat que la major part dels resultats obtinguts no han presentat una distribució normal, es va optar per presentar els resultats expressats en els valors de la seva mediana i quartils 25 (Q1) i 75 (Q3) i amb el rang entre els valors límits superior (L_s) i inferior (L_i). Per realitzar la comparativa estadística dels resultats es va emprar el test U de Mann Whitney, com ja s'ha indicat abans a l'apartat de la metodologia estadística utilitzada.

Partint d'aquí i tal com s'ha detallat al capítol anterior a l'apartat del tractament de les dades, es van establir tres tipus d'avaluacions en aquest treball. En primer lloc, es va realitzar una comparativa de la mediana i quartils dels valors obtinguts segons el criteri diagnòstic establert a la gammagrafia, per verificar la seva utilitat en la pràctica diària.

Posteriorment, conegut el diagnòstic clínic final del pacient, es va fer una representació descriptiva dels valors de cada variable agrupats segon l'encert diagnòstic i per fer després una valoració comparativa entre els valors obtinguts en els casos estudiats, segons la certesa o falsedat del resultat clínic. Aquest darrer punt es va fer amb la finalitat de verificar desviacions metodològiques que podrien justificar els possibles errors diagnòstics per la gammagrafia.

4.2.1. Grup I. De l'hemograma i viabilitat leucocitària

Es presenten les dades obtingudes segons el criteri abans exposat de les variables estudiades al grup I.

4.2.1.1. Dades comparatives segons diagnòstic gammagràfic

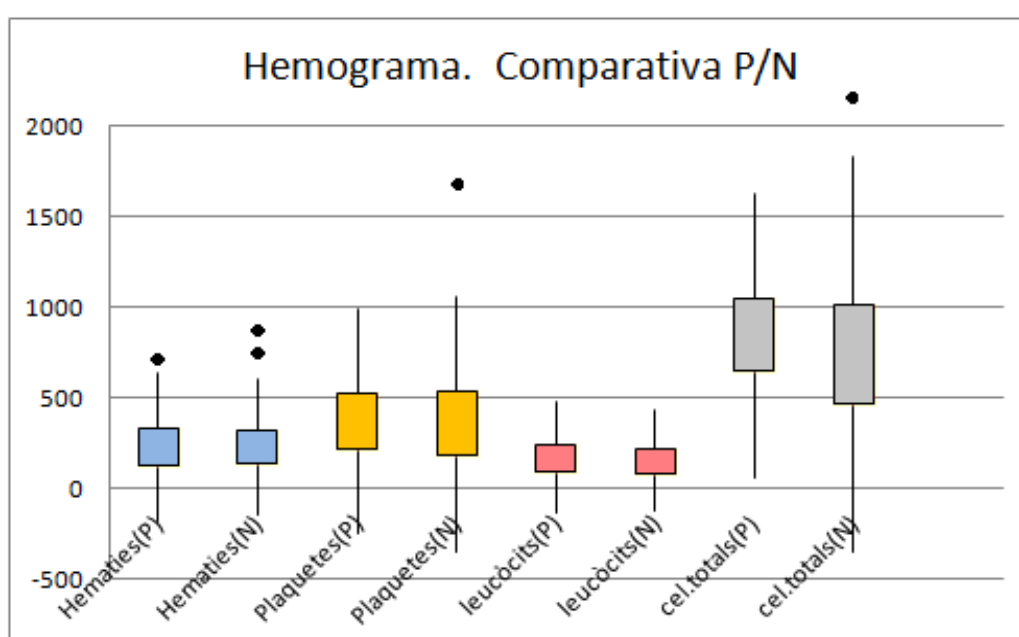
Es detallen a la taula 14.

Taula 14. Dades comparativa de les variables (mediana i percentils Q1 i Q3) segons el resultat de la gammagrafia en 87 estudis.

| Variables | Gammagrafia negativa | Gammagrafia positiva | p |
|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------|
| Rendiment (%) | 49,9 (37,8-56,1) | 50,6 (44,9-56,3) | 0,271 |
| Total cèl·lules/dosi | 676 (470-1016) | 825 (650-1043) | 0,254 |
| Hematies ($\times 10^6$)/dosi | 232 (127-325) | 209 (116-368) | 0,569 |
| Plaquetes ($\times 10^6$)/dosi | 260 (165-532) | 315 (221-557) | 0,375 |
| Leucòcits ($\times 10^6$)/dosi | 153 (69-222) | 134 (90-260) | 0,648 |
| Limfòcits ($\times 10^6$)/dosi | 27 (14-56) | 37 (17-57) | 0,295 |
| Neutròfils ($\times 10^6$)/dosi | 93 (50-148) | 93 (55-185) | 0,54 |
| Viabilitat (%) | 98,3 (97,2-99) | 98,6 (97,5-99,3) | 0,321 |
| Total estudis | 53 | 34 | |

No es van observar diferències significatives entre les variables estudiades. Es detectà una tendència d'un major nombre de cèl·lules totals a expenses de les plaquetes en els casos positius. Les xifres de leucòcits indicaven que no en tots els casos s'havien assolit els 200 milions aconsellables de marcar o inclús molt per sota de la mateixa tant en els resultats positius com negatius (Figura 25).

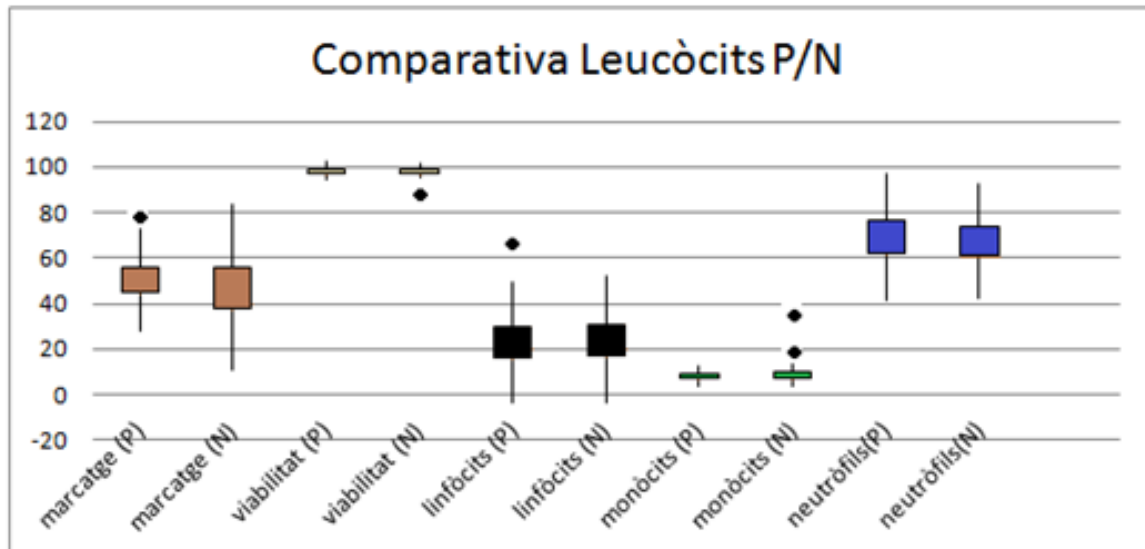
Figura 25. Box/plot dels Q1,Q3 límits inferiors, límits superiors i punts atípics obtinguts en l'hemograma de la dosi, segons els resultats positiu (P) o negatiu (N) de la gammagrafia.



No es van observar diferències significatives entre les dades comparades. Cal esmentar que el màxim component present a la dosi eren les plaquetes, seguit per les hematies i finalment els leucòcits.

Per altre part, i com era d'esperar, es va mantenir la proporció entre les poblacions leucocitàries, com es pot apreciar a la figura 26.

Figura 26. Percentatges dels rendiments del marcatges, la viabilitat cel·lular i les poblacions leucocitàries obtingudes a les dosis dels pacients del grup I, agrupats segons el resultat de les gammagrafies positiu (P) o negatiu (N).



El rendiment del marcatge va ser similar amb una major amplitud en els casos negatius. La viabilitat va ser molt alta, sense diferències segons el resultat de la gammagrafia. Els percentatges de les poblacions leucocitàries van ser els esperats.

4.2.1.2. Dades segons el diagnòstic clínic

Es va verificar l'evolució clínic del pacient per constatació en la seva història clínic al cap de 2 anys del diagnòstic definitiu, tal com s'ha descrit abans a l'apartat de la metodologia emprada (Taula 15).

Taula 15. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic.

| GRUP I | Global | FN | FP | VN | VP |
|---------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Budell | 16 | 0 | 1 | 5 | 10 |
| Vasos | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| Inespecífic | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Crani | 4 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| Tòrax | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pelvis | 18 | 3 | 0 | 11 | 4 |
| Colze | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Canell | 3 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Fèmur | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Genoll | 32 | 2 | 1 | 19 | 10 |
| Tíbia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Peus | 7 | 1 | 0 | 3 | 3 |
| Total estudis | 87 | 8 | 3 | 45 | 31 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

Com a dades rellevants indicar que els resultats de falsos negatius van ser 2 estudis per determinar la localització dels leucòcits $^{99m}\text{Tc-HMPAO}$ en pacients amb sospita de F.O.D., 3 pròtesis de maluc i 2 pròtesis de genoll, així com un estudi d'osteomielitis al calcani. Per altre part es van verificar com falsos positius un cas de colitis ulcerosa, una sospita d'infecció a un pacient amb cirurgia al maxil·lar i una altre cas amb una artritis del genoll.

4.2.1.3. Dades descriptives dels paràmetres estudiats agrupats segons diagnòstic clínic.

Segons el tipus d'encert diagnòstic i fent esment dels casos falsos negatius (FN), casos falsos positius (FP), casos veritablement negatius (VN) i els casos

veritablement positius (VP), es fa una descripció dels resultats obtinguts per a cada paràmetre avaluat expressats en valors de la mediana i quartils (Taula 16) .

Taula 16. Dades descriptives dels paràmetres de l'hemograma de la dosi (mediana i quartils).

| Grup I | Global | FN | FP | VN | VP |
|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| % Rendiment | 50 (42,6-56) | 40 (36-51) | 44,1 (40,4-47) | 51,4 (42,5-57,3) | 50,1 (45,1-55,9) |
| Cèl·lules totals | 739x10 ⁶ (549-1020) | 563 x10 ⁶ (432-723) | 564 x10 ⁶ (430-662) | 692 x10 ⁶ (478-1013) | 853 x10 ⁶ (678-1087) |
| % Hematies | 30,3 (23,5-40,2) | 38,9 (28,2-45,2) | 53 (41,4-54) | 30 (25,7-38,3) | 46,8 (33,7-69) |
| % Plaquetes | 45,5 (32,9-56,3) | 43,4 (35,5-48,7) | 13,6 (9,3-34,4) | 44,6 (34,2-55,1) | 29,5 (17,1-36,5) |
| % Leucòcits | 20,7 (14,5-28,1) | 20 (15-26,2) | 31,4 (23,1-36,7) | 20,9 (15,3-26,5) | 20,1 (12,2-29,3) |
| Total estudis | 87 | 8 | 3 | 45 | 31 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

Amb les dades obtingudes, s'observà que la mediana oscil·lava entre el 40 i 50 % del rendiment de marcatge i s'aprecià una tendència de a més rendiment més cèl·lules presents, amb predomini de les hematies en els casos positius a diferència dels negatius on predominaven les plaquetes que també ho feien de manera global.

Cal esmentar que la fracció leucocitària es va mantenir per un igual en tots els casos i que es trobà en una proporció global de 1,5 hematies i 2,5 plaquetes per leucòcit.

Referent a les dades obtingudes sobre les subpoblacions leucocitàries els resultats obtinguts es detallen a la taula 17.

Taula 17. Percentatges de les poblacions leucocitàries presents.

| Grup I | Global | FN | FP | VN | VP |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| % Rendiment | 50% (42,6.-56) | 40% (36-51) | 44,1% (40,4-47) | 51,4 % (42,5-57,3) | 50,1% (45,1-55,9) |
| Leucòcits (cèl·lules) | 142 x10 ⁶ (83-232) | 127 x10 ⁶ (79-167) | 237 x10 ⁶ (140-238) | 153x10 ⁶ (74-224) | 135 x10 ⁶ (92-270) |
| % Limfòcits | 20,9 (16,5-29,8) | 22,2 (15,7-26,2) | 16,8 (16,8-19,4) | 21,4 (17,3-30,7) | 20,3 (16-29,6) |
| % Monòcits | 8,2 (7-9,6) | 8,4 (6,8-9,2) | 8,3 (8,2-9,3) | 8,4 (7-9,9) | 7,9 (7-9,1) |
| % Granulòcits | 71,2 (61,4-75,1) | 70,2 (67-71,9) | 74,9 (71,3-75,1) | 71,4 (60,9-73,9) | 72,3 (60,1-77,2) |
| Total estudis | 87 | 8 | 3 | 45 | 31 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

Es pot observar uns valors de les variables estudiades similars entre ells i caldria destacar el manteniment d'una proporció similar de les poblacions leucocitàries als habituals descrits com a valors de referència als hemogrames de la població sana.

Finalment, a la taula 18 es detallen els resultats obtinguts per la viabilitat leucocitària estudiada.

Taula 18. Dades descriptives de la viabilitat leucocitària (mediana i rangs d'interval) segons tipus d'encert diagnòstic.

| Grup I | Global | FN | FP | VN | VP |
|---------------|---------------------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| % Rendiment | 50 (42,6-56) | 40 (36-51) | 44,1 (40,4-47) | 51,4 (42,5-57,3) | 50,1 (45,1-55,9) |
| % Viabilitat | 98,3 (97,4-99,2) | 98,8 (98-99,3) | 96,7 (95,8-97) | 98,3 (97,5-99) | 98,8 (97,5-99,4) |
| Total estudis | 87 | 8 | 3 | 45 | 31 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

Com en les taules anteriors es van descriure les dades conjuntament amb les corresponents als rendiments de marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc -HMPAO, donat que aquest últim és l'únic control de qualitat establert en la rutina diària.

4.2.1.4. Dades comparatives sobre l'encert diagnòstic clínic

Tal com s'ha esmentat abans en l'apartat de tractament de les dades al capítol anterior, es va verificar l'existència de diferències entre els resultats agrupats segons el seu encert diagnòstic clínic final per trobar indicis atribuïbles als procediments de treball establerts (Taula 19).

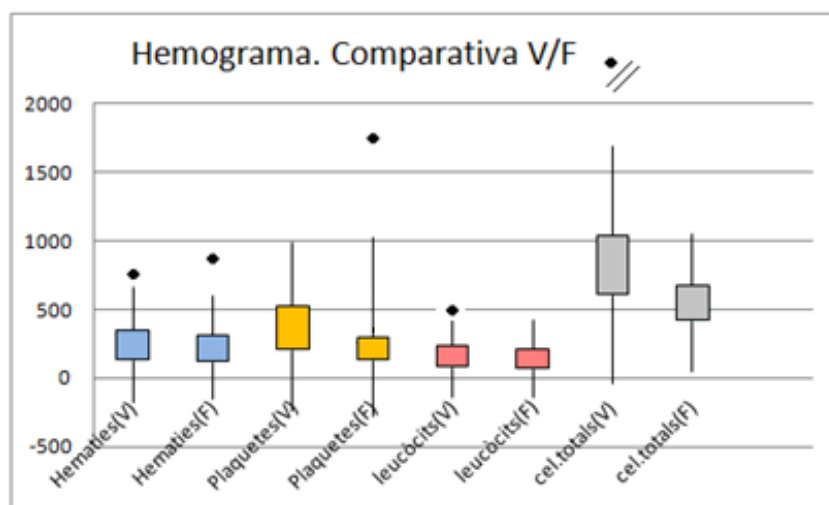
Taula 19. Dades comparatives en 87 estudis de les variables (i quartils) segons el resultat clínic final establerts entre el patró veritable (VP+VN) i el fals (FP+FN).

| Variables Grup I | Patró Veritable | Patró Fals | P |
|-------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------|
| % Rendiment | 51,0 (43,1-57) | 42,1 (36,8-50,2) | 0,018 |
| Cèl·lules totals | 780 x 10 ⁶ (615-1099) | 564 x 10 ⁶ (445-672) | 0,048 |
| Hematies | 226x 10 ⁶ (147-343) | 236x 10 ⁶ (135-311) | 0,567 |
| Plaquetes | 323 x 10 ⁶ (211-532) | 163 x 10 ⁶ (97-310) | 0,035 |
| Leucòcits | 163 x 10 ⁶ (120-238) | 151 x 10 ⁶ (95-311) | 0,438 |
| % Limfòcits | 21,2 (16,3-30,0) | 20,1 (16,8-24,4) | 0,515 |
| % Monòcits | 8,0 (7-9,7) | 8,3 (7,6-9,3) | 0,745 |
| % Neutròfils | 71,4 (60,9-75,4) | 70,3 (67,9-74,5) | 0,774 |
| % Viabilitat | 98,3 (97,5-99,2) | 98,3 (97,1-99,2) | 0,605 |
| Total estudis | 76 | 11 | |

Aquí ja es van robar diferències estadísticament significatives: una la del rendiment de marcatge, una altra el nombre de cèl·lules totals i finalment el nombre de plaquetes. La resta de variables no van presentar diferències significatives. Potser destacar uns valors molt similars per a les poblacions leucocitàries i per a la viabilitat cel·lular. Basant-se amb la variable més

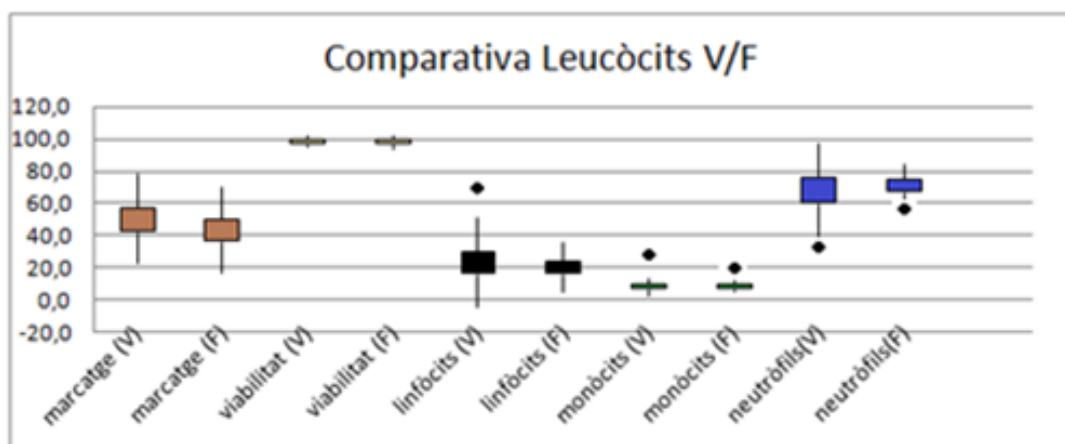
significativa que correspon al rendiment del marcatge caldrà verificar si les plaquetes queden marcades com justificant d'un major rendiment del marcatge o bé, si és degut a algun altre factor, com es pot sospitar en la representació gràfica de les dades obtingudes que va suggerir uns valors màxims de cèl·lules totals i plaquetes molt allunyats del tercer percentil, per la qual cosa no es pot descartar que es tracti d'errors (Figura 27).

Figura 27. Box/plot de les dades obtingudes per al Grup I, en la verificació de les dades de l'hemograma de la dosi, segons l'encert diagnòstic.



El manteniment de la proporcionalitat entre les poblacions leucocitàries estudiades i la viabilitat cel·lular obtinguda es detalla a la figura 28.

Figura 28. Box/plot dels percentatges de les poblacions leucocitàries, el rendiment de marcatge i la viabilitat cel·lular.



En aquest apartat, es va observar que les diferències del rendiment de marcatge, no es poden justificar per desviacions a la població leucocitària.

4.2.2. Grup II. Distribució components marcats de la dosi i puresa del ^{99m}Tc -HMPAO, precursor del marcatge

4.2.2.1. Dades comparatives segons diagnòstic gammagràfic

Com en el cas de l'apartat anterior per la grup I els resultats de cada variable estudiada es van agrupar segons el diagnòstic gammagràfic establert com positiu o negatiu per a la seva comparació estadística (Taula 20)

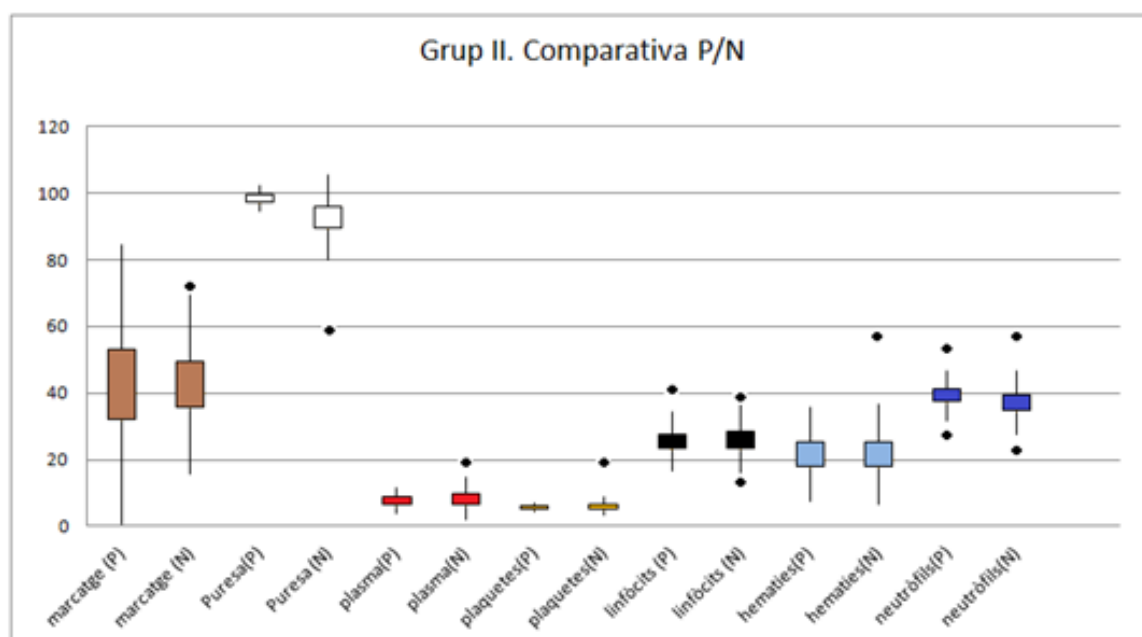
Taula 20. Dades comparatives en 101 estudis de les variables (mediana i percentils 25-75) segons el resultat de la gammagrafia.

| Variabls | Gammagrafia negativa | Gammagrafia positiva | p |
|-------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------|
| Rendiment (%) | 40 (35,5-49,9) | 41,7 (31-56,6) | 0,671 |
| Puresa ^{99m}Tc -HMPAO (%) | 94,1 (89-95,8) | 92,8 (97,4-99,3) | 0,585 |
| Total activitat (MBq) | 12,9 (4,9-21,6) | 15,2 (11-18,1) | 0,532 |
| Plasma (%) | 7,2 (15-22,6) | 5,7 (14-23,6) | 0,578 |
| Plaquetes (%) | 4,3 (3,7-6,9) | 4,2 (3,7-5,7) | 0,828 |
| Limfòcits (%) | 26 (23,3-28,7) | 24,9 (23,3-27,7) | 0,817 |
| Neutròfils (%) | 37 (34,6-40,2) | 39,1 (37,3-41,1) | 0,428 |
| Hematies (%) | 24,3 (17,8-25,4) | 21,5 (18-25,1) | 0,764 |
| Total estudis | 57 | 44 | |

En aquest control establert no es van evidenciar cap diferència estadísticament significativa per a les variables estudiades, refermant la teoria que les variables estudiades no tenen una influència vers el resultat gammagràfic.

Ara bé, sí es pot observar més activitat relacionada amb el plasma que per a les plaquetes i una activitat relacionada amb les hematies quasi similar als limfòcits. A la figura 29 es poden evidenciar gràficament aquestes observacions fetes.

Figura 29. Box/plot respecte als percentatges de la distribució del ^{99m}Tc en els components de la dosi i de la puresa del ^{99m}Tc -HMPAO com precursor.



Observant la figura 29 les úniques variables que podrien estar relacionades seria una pèrdua de la puresa amb un increment del percentatge de les hematies marcades en els casos dels estudis amb pitjor puresa del precursor del marcatge.

4.2.2.2. Dades segons el diagnòstic clínic

Igual com es va fer en els estudis del grup I, aquí també es detallen els resultats diagnòstics clínics de cada estudi en verificar el resultat definitiu per l'observació de l'evolució clínica dels pacients, fins a 2 anys posteriors al dictamen diagnòstic gammagràfic (Taula 21).

Taula 21. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic.

| GRUP II | Global | FN | FP | VN | VP |
|----------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Budell | 15 | 0 | 0 | 4 | 11 |
| Vasos | 6 | 1 | 0 | 3 | 2 |
| Inespecífic | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Crani | 6 | 1 | 1 | 1 | 3 |
| Tòrax | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Pelvis | 19 | 6 | 0 | 10 | 3 |
| Colze | 3 | 0 | 0 | 2 | 1 |
| Canell | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fèmur | 4 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Genoll | 31 | 1 | 4 | 16 | 10 |
| Tíbia | 5 | 0 | 0 | 3 | 2 |
| Peus | 8 | 1 | 0 | 3 | 4 |
| Total estudis | 101 | 12 | 5 | 45 | 39 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

En aquest grup els resultats falsos negatius es van donar en 1 estudi de vasculitis, 2 casos de F.O.D., 1 cas de cirurgia maxil·lar, 6 pròtesis de maluc, 1 cas de pròtesis de genoll i una patologia artrítica al peu. 1 cas postintervenció quirúrgica al crani i 4 pròtesis de genoll, van conformar els casos falsos positius.

4.2.2.3. Dades descriptives segons el diagnòstic clínic

Les dades descriptives de les variables (mediana i quartils) dels components marcats amb descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic es detallen a la taula 16.

Taula 22. Dades descriptives segon resultat clínic del grup II.

| Grup II | Global | FN | FP | VN | VP |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| % Rendiment | 40 (35-50,6) | 37,2 (33,4-44,2) | 44 (37,1-53,3) | 41 (36,1-49,4) | 36,5 (27,4-42,4) |
| MBq mostra | 13,9 (8,8-20,3) | 12,9 (6,8-20,2) | 15,9 (15,7-16,6) | 12,9 (4,4-21,6) | 14,9 (11,2-18,5) |
| % Plasma | 7,3 (6,7-9) | 7,8 (6,7-9,3) | 7,2 (6,7-7,3) | 7,1 (6,7-9,4) | 8,2 (6,7-8,8) |
| % Plaquetes | 5,6 (5,4-6,4) | 5,7 (5,3-7,7) | 5,5 (5,6-5,9) | 5,6 (5,4-6,7) | 5,5 (5,4-5,6) |
| % Limfòcits | 25,1 (23,3-28,2) | 24,7 (23,4-27,4) | 24,2 (23,4-26,4) | 26,1 (23,2-29) | 25 (23,3-27,7) |
| % Hematies | 21,7 (18-25,3) | 23,1 (18,8-25,4) | 20,9 (19,6-24,5) | 33 (17,5-25,4) | 21,5 (18-24,6) |
| % Granulòcits | 39 (35,4-41) | 37,1 (34,3-41,3) | 40,6 (39,2-41,4) | 37 (34,8-39,4) | 39 (37,3-41,1) |
| Total estudis | 101 | 13 | 5 | 43 | 40 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

Igualment, les dades descriptives de les variables (mediana i quartils) de la puresa radioquímica del precursor del marcatge ^{99m}Tc -HMPAO segons el tipus d'encert diagnòstic es detallen a la taula 23.

Taula 23. Dades segons la determinació de la puresa radioquímica del ^{99m}Tc -HMPAO.

| Grup II | Global | FN | FP | VN | VP |
|---------------|-----------------|---------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| % Rendiment | 40 (35-50,6) | 37,5 (33,4-44,2) | 44 (37,1-53,3) | 41 (36,1-49,4) | 40 (31,6-52) |
| % Puresa | 93 (89-95) | 95,3 (93-97,1) | 82,5 (80-92,6) | 93,9 (89-95,2) | 92,9 (90-8-94,5) |
| Total estudis | 101 | 13 | 5 | 43 | 40 |

FN: Falsos negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: veritables positius

En aquest cas es verifica un alt nivell de la puresa del ^{99m}Tc -HMPAO com precursor del marcatge, independentment de l'encert diagnòstic clínic final. Cal destacar que el valor més baix obtingut corresponia a un cas d'un fals positiu.

4.2.2.4. Dades comparatives segons l'encert del diagnòstic clínic

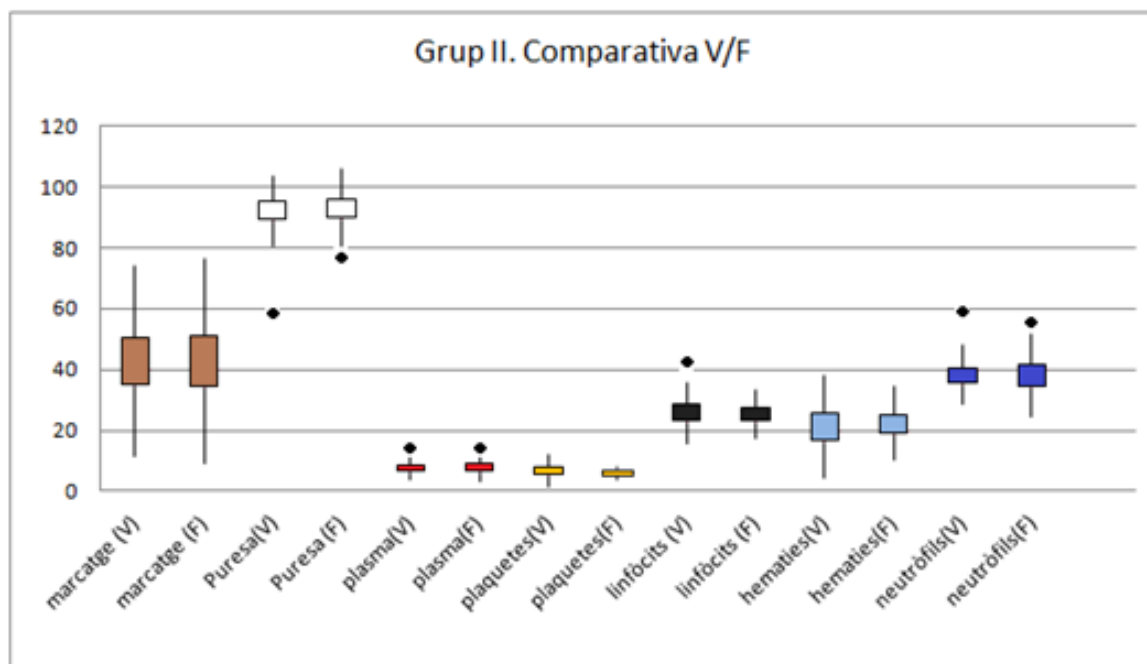
Com en les casos anteriors es va verificar l'existència de diferències entre els resultats agrupats segons el seu encert diagnòstic clínic final per trobar indicis atribuïbles al procediments de treball establerts (Taula 24).

Taula 24. Dades comparatives de les variables (mediana i quartils) en 101 estudis.

| Grup II | Patró Veritable | Patró Fals | p |
|----------------------------------|------------------------|-------------------|----------|
| % Rendiment | 40 (35,0-50,3) | 37,8 (34,3-51) | 0,922 |
| % Puresa ^{99m} Tc-HMPAO | 93,0 (89,2-95,0) | 94,2 (89,8-96,2) | 0,271 |
| MBq mostra | 13,1(5,3-21) | 14,4 (8,4-18) | 0,680 |
| % Plasma | 7,1 (6,7-9,4) | 7,6 (6,8-8,8) | 0,653 |
| % Plaquetes | 5,6 (5,4-6,8) | 5,5 (5,4-5,9) | 0,636 |
| % Limfòcits | 25,4 (23,3-28,3) | 24,6 (23,4-27,3) | 0,594 |
| % Neutròfils | 37,1 (34,8-40,9) | 39,1 (37,7-39,4) | 0,619 |
| % Hematies | 22,8 (18,1-25,4) | 21,7 (17,3-25) | 0,968 |
| Total estudis | 83 | 18 | |

No es van trobar diferències significatives i caldria destacar l'activitat atribuïda a les plaquetes i els percentatges del plasma i de les hematies com els principals responsables dels components de la dosi que inevitablement també hi són presents i que com a portadors d'activitat seran detectats en el pacient.

La representació gràfica de les dades es presenta a la figura 30.

Figura 30. Box/plot dels percentatges obtinguts de les variables estudiades al grup II.

En la figura 29 es pot verificar que la metodologia del procediment del marcatge realitzat no presenta diferències segons l'encert diagnòstic clínic final. Crida l'atenció la presència d'un punt distant a la part baixa de la puresa radioquímica del precursor del marcatge en els casos veritables sense evidenciar una repercussió en la resta dels valors de les variables estudiades.

4.2.3. Grup III. De la localització dels components de la dosi en el pacient

Com en els casos anteriors, en aquest apartat es descriuen les dades de les variables estudiades i la seva agrupació segons els resultats del diagnòstic gammagràfic i clínic final.

4.2.3.1. Dades comparatives segons diagnòstic gammagràfic

Es presenten per a cada subgrup dels estudis realitzats, un sobre l'abdomen des pacients al subgrup III A i un altre als genolls del subgrup III B.

4.2.3.1.1. Detecció abdominal al subgrup III A

Les dades comparatives dels 84 estudis de les variables (mediana i percentils Q1 i Q3) de la detecció abdominal dels pacients segons el resultat de la gammagrafia es detallen a la taula 25.

Taula 25. Localització de l'activitat de la dosi a l'abdomen dels 84 pacients.

| Variables | Gammagrafia negativa | Gammagrafia positiva | p |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------|
| Rendiment (%) | 41,0 (35-48,8) | 44 (33,4-54,8) | 0,247 |
| Àrea (ROI) | 100 (96-114) | 98 (88-103,7) | 0,054 |
| Cresta ilíaca (CI) | 368 (256-440) | 333 (204-1163) | 0,705 |
| Vasos (VA) | 190 (138-240) | 120 (83-513) | 0,032 |
| Parts Toves (PT) | 156 (120-201) | 115 (70-195) | 0,042 |
| CI / PTA | 2,3 (1,6-3) | 3,1 (2,5-4,6) | <0,01 |
| VA / PTA | 1,16 (1,09-1,55) | 1,08 (1,01-1,29) | 0,061 |
| Total estudis | 47 | 37 | |

En aquesta taula, s'observen diferències significatives a les variables corresponents a les activitats enregistrades a les parts toves i vasos, així com també a l'índex de relació entre les crestes ilíaqes i les parts toves. Donat que les àrees ROI són similars cal interpretar que l'activitat romanent i sense metabolitzar en els casos negatius era més alta que en els casos positius. Es podria especular si es correspon a un millor marcatge i funcionalisme dels leucòcits marcats.

4.2.3.1.2. Detecció als genolls en el subgrup III B

Les dades comparatives dels 48 estudis de les variables (mediana i percentils Q1 i Q3) de la detecció abdominal del pacients segons el resultat de la gammagrafia es detallen a la taula 26.

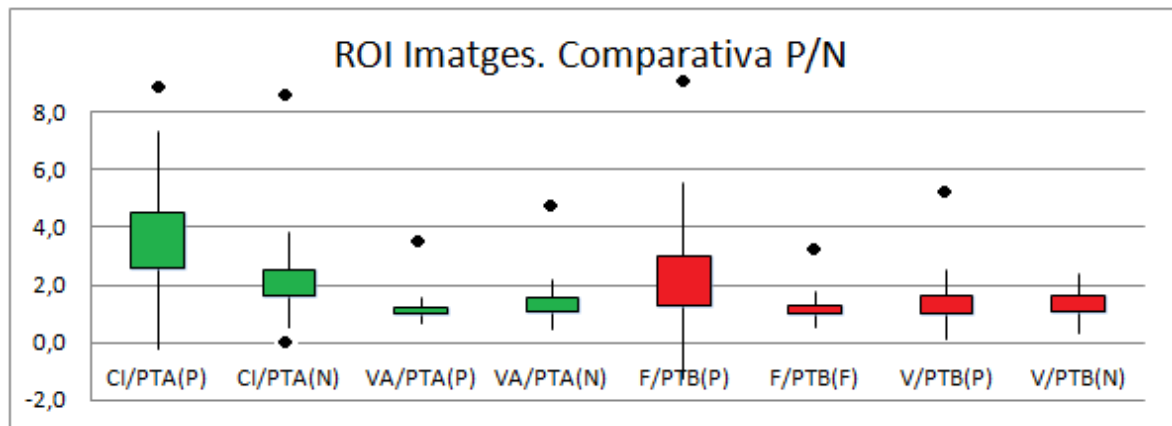
Taula 26. Localització de l'activitat de la dosi als genolls dels pacients.

| Variables | Gammagrafia negativa | Gammagrafia positiva | p |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------|
| Rendiment (%) | 45,1 (37,7-53,3) | 40 (35,2-49,7) | 0,180 |
| Àrea (ROI) | 100 (96-109,5) | 100 (90-120,6) | 0,901 |
| Fèmur (F) | 140 (130-207) | 331 (165-1826) | <0.01 |
| Vasos (VB) | 195 (150-221) | 229 (138-962) | 0,224 |
| Parts Toves (PTB) | 136 (112-174) | 140 (109-740) | 0,496 |
| F / PTB | 1,1 (0,96-1,30) | 2,3 (1,3-3,0) | <0.01 |
| VB / PTB | 1,3 (1,11-1,58) | 1,0 (1,02-1,76) | 0,208 |
| Total estudis | 24 | 24 | |

En aquesta taula també es poden apreciar les diferències significatives corresponents a l'activitat del fèmur distal i a l'índex de relació entre el fèmur i les parts toves. En aquest cas també en no existir diferències entre les àrees ROI establertes va indicar que l'activitat romanent circulant, encara que similar a tots els casos, estaria contrastada per una millor captació al fèmur en els casos positius. Donat que la part distal del fèmur, a on preferentment es va ubicar la ROI de l'estudi, és una zona empobrida en el SFM es podria especular amb una activació de l'os en fases de patologia activa o bé per un millor marcatge i funcionalisme dels leucòcits administrats.

La representació gràfica dels resultats obtinguts per als dos subgrups estudiats es presenten conjuntament a la Figura 31.

Figura 31. Box/plot dels índexs de localització de les dosis al grup III, a l'abdomen (subgrups III A) i als genolls (subgrup III B).



En la figura 31 es pot observar que els índexs que relacionen l'activitat registrada als ossos respecte a les parts toves que han resultat positius a la infecció són els més alts entre els estudiats.

4.2.3.2. Dades diagnòstic clínic

Seguint el fil conductor d'aquest treball a continuació es detallen els resultats clínics dels pacients i l'agrupació dels resultats segons l'encert diagnòstic final.

4.2.3.2.1. Subgrup IIIA

En primer lloc es fa una descriptiva dels encerts diagnòstic establerts en el primer subgrup estudiat.

Les dades corresponents al subgrup IIIA es detallen a la taula 27.

Taula 27. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic al subgrup IIIA.

| GRUP III A | Global | FN | FP | VN | VP |
|-------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Budell | 36 | 0 | 1 | 15 | 20 |
| Vasos | 7 | 3 | 1 | 2 | 1 |
| Inespecífic | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Crani | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Tòrax | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pelvis | 32 | 1 | 1 | 18 | 12 |
| Colze | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Canell | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fèmur | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Genoll | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Tíbia | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Peus | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Total estudis | 84 | 7 | 4 | 38 | 35 |

FN: Falsos Negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: Veritables positius

En aquest grup els resultats falsos negatius els van conformar 3 estudis d'intervencions quirúrgiques a la implantació de pròtesis vasculars, 1 F.O.D., 1 de cirurgia maxil·lars, 1 pròtesi de maluc i 1 pròtesi de genoll. Els falsos positius corresponien a 1 intervenció quirúrgica al vasos, 1 artritis pèlvica, 1 artritis de genoll i 1 colitis ulcerosa.

4.2.3.2.2. Subgrup IIIB

Les dades corresponents al subgrup IIIB es detallen a la taula 28.

Taula 28. Descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic.

| GRUP III B | Global | FN | FP | VN | VP |
|-------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Budell | 3 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Vasos | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Inespecífic | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Crani | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Tòrax | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pelvis | 3 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| Colze | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Canell | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Fèmur | 6 | 0 | 0 | 2 | 4 |
| Genoll | 27 | 5 | 2 | 9 | 11 |
| Tíbia | 7 | 0 | 0 | 5 | 2 |
| Peus | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Total estudis | 48 | 7 | 2 | 17 | 22 |

FN: Falsos Negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: Veritables positius

Els falsos negatius es corresponien a una intervenció quirúrgica al vasos, 1 pròtesi de maluc i 5 pròtesis de genoll; en canvi els falsos positius corresponien a 2 pròtesis de genoll.

4.2.3.3. Dades descriptives segons el diagnòstic clínic

Es fa una descripció de les dades de les variables (mediana i quartils) dels components marcats amb descripció del nombre de casos per a cada localització patològica i encert diagnòstic.

4.2.3.3.1. Dades descriptives del subgrup IIIA

Les dades descriptives obtingudes per als pacients amb detecció abdominal de la localització dels components de la seva dosi es detallen en la taula 29.

Taula 29. Dades descriptives segons l'encert diagnòstic al subgrup IIIA.

| Grup III A | Unitats | Global | FN | FP | VN | VP |
|--------------------|----------|------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| % Rendiment | % | 40 (35-50,6) | 37,5 (33,4-44,2) | 44 (37,1-53,3) | 41 (36,1-49,4) | 40 (31,6-52) |
| Àrea ROI | Nºpíxels | 100 (92-110) | 108 (96-115) | 86 (79-93) | 100 (97-115) | 98 (88-103) |
| Cresta ilíaca (CI) | cpm | 347 (228-456) | 280 (171-415) | 407 (266-548) | 352 (249-428) | 358 (243-1163) |
| Vasos (VA) | cpm | 160 (109-241) | 190 (70-265) | 125 (77-172) | 183 (138-240) | 120 (91-513) |
| Parts toves (PTA) | cpm | 134 (100-201) | 160 (73-193) | 112 (68-156) | 152 (122-203) | 115 (79-195) |
| CI / PTA | índexs | 2,7 (2,1-3,5) | 2,3 (2,2-2,8) | 4,3 (3,9-4,8) | 2,3 (1,6-2,9) | 3,2 (2,6-4,5) |
| VA / PTA | índexs | 1,1 (1,1-1,4) | 1,2 (1,1-1,4) | 1,2 (1,1-1,2) | 1,2 (1,1-1,5) | 1,1 (1-1,3) |
| Total estudis | | 84 | 7 | 2 | 40 | 35 |

FN: Falsos Negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: Veritables positius

Cal remarcar que persisteix un major valor de l'índex d'activitat corresponent a la cresta ilíaca, representativa de la localització fisiològica dels leucòcits al ser un os ric en el SFM.

4.2.3.3.2. Dades descriptives del subgrup IIIB

Les dades descriptives obtingudes per als pacients amb detecció als genolls de la localització dels components de la seva dosi es detallen en la taula 30.

Taula 30. Dades descriptives segons l'encert diagnòstic al subgrup IIIB.

| Grup III B | Unitats | Global | FN | FP | VN | VP |
|-------------------|----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Rendiment | % | 41,6 (37,3-50,6) | 41,6 (37,3-50,6) | 41,6 (37,3-50,6) | 41,6 (37,3-50,6) | 41,6 (37,3-50,6) |
| Àrea ROI | Nºpíxels | 100 (94-112) | 100 (85-108) | 99 (97-101) | 100 (99-108) | 100 (90-120) |
| Fèmur (F) | comptes | 182 (136-436) | 145 (137-650) | 145 (145-145) | 136 (130-156) | 380 (204-1826) |
| Vasos (VB) | comptes | 210 (144-314) | 178 (156-503) | 226 (223-229) | 198 (165-221) | 262 (138-962) |
| Parts toves (PTB) | comptes | 136 (111-218) | 136 (130-316) | 111 (111-111) | 136 (111-156) | 151 (112-740) |
| F / PTB | índexs | 1,3 (1,1-2) | 1,1 (1-1,6) | 1,3 (1,3-1,3) | 1,1 (0,9-1,3) | 1,9 (1,4-3) |
| VB / PTB | índexs | 1,2 (1,1-1,6) | 1,3 (1,2-1,5) | 2 (2-2,1) | 1,3 (1,1-1,6) | 1,1 (1-1,5) |
| Total estudis | | 48 | 7 | 2 | 17 | 22 |

FN: Falsos Negatius; FP: Falsos Positius; VN: veritables negatius; VP: Veritables positius

També en aquest grup cal esmentar que es va trobar un valor de major activitat localitzada al fèmur en els casos veritables positius, però també destacar l'índex més elevat trobat als vasos en els casos falsos positius.

4.2.3.4. Dades comparatives sobre l'encert diagnòstic clínic

4.2.3.4.1. Dades comparatives del subgrup IIIA

Les dades comparatives obtingudes per als pacients amb detecció abdominal de la localització dels components de la seva dosi es detallen en la taula 31.

Taula 31. Localització abdominal de la dosi de ^{99m}Tc -HMPAO leucòcits en 84 estudis.

| Grup III A | Patró Veritable | Patró Fals | p |
|--------------------|------------------------|-------------------|----------|
| Rendiment | 41,0 (34,5-48,5) | 51,2 (43,0-54,0) | 0,112 |
| Àrea ROI | 100 (92-110) | 104 (96-117) | 0,476 |
| Cresta ilíaca (CI) | 358 (265-460) | 275 (147-417) | 0,214 |
| Vasos (VA) | 160 (111-242) | 163 (52-217) | 0,464 |
| Parts Toves (PTA) | 132 (102-207) | 148 (49-195) | 0,624 |
| CI / PTA | 2,7 (2,1-3,6) | 2,5 (2,1-3,0) | 0,543 |
| VA / PTA | 1,1 (1,0-1,4) | 1,2 (1,1-1,2) | 0,730 |
| Total estudis | 72 | 12 | |

En aquesta taula els resultats obtinguts no demostraven cap diferència significativa entre ells, a diferència dels resultats obtinguts respecte als mateixos índexs de relació obtinguts segons el resultat diagnòstic gammagràfic establert.

Aquestes dades anirien més a favor d'una pràctica de l'operador similar en el procediment realitzat, deixant la variabilitat diagnòstica a les limitacions de la prova i/o situació del pacient, com es plantejarà a la discussió del treball.

La representació gràfica dels índexs obtinguts es detallen posteriorment a la descripció dels resultats comparatius del grup IIIB per fer-ho de manera conjunta. Tal i com s'han presentat anteriorment els obtinguts segons els resultats diagnòstics.

4.2.3.4.2. Dades descriptives del subgrup IIIB

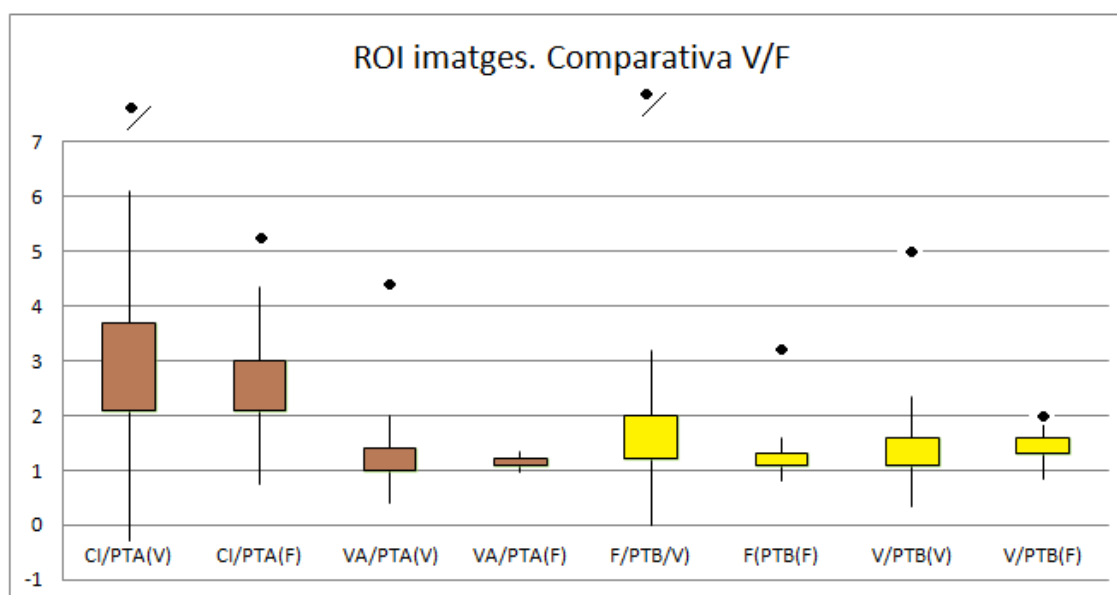
Les dades comparatives obtingudes per als pacients amb detecció als genolls de la localització dels components de la seva dosi es detallen en el taula 32.

Taula 32. Localització als genolls de la dosi de ^{99m}Tc -HMPAO leucòcits en 48 estudis.

| Grupo III B | Unitats | Patró Veritable | Patró Fals | p |
|-------------------|-----------|------------------|------------------|-------|
| Rendiment | % | 40,8 (37,1-49,8) | 42,1 (38,0-54,2) | 0,716 |
| Àrea ROI | Nº píxels | 100 (96-117) | 100 (90-107) | 0,466 |
| Fèmur (F) | comptes | 201 (136-447) | 145 (139-420) | 0,567 |
| Vasos (VB) | comptes | 210 (140-305) | 220 (168-318) | 0,659 |
| Parts Toves (PTB) | comptes | 136 (110-227) | 136 (112-200) | 0,917 |
| F / PTB | índex | 1,3 (1,2-2,0) | 1,1 (1,1-1,3) | 0,272 |
| VB / PTB | índex | 1,2 (1,1-1,6) | 1,4 (1,3-1,6) | 0,199 |
| Pacients | 48 | 39 | 9 | |

En aquestes dades tampoc es demostraven diferències significatives respecte als mateixos índexs de relació d'activitat obtinguts en la comparativa dels resultats segons el diagnòstic gammagràfic establert.

La representació gràfica conjunta dels resultats dels índexs d'activitat obtingut per al grup III es detallen a la figura 32.

Figura 32. Box/plot dels resultats índexs segons diagnòstic clínic final.

Es confirma que els valors més alts es corresponen als obtinguts a les imatges abdominals i, en especial, a la cresta ilíaca com lloc de predomini de localització dels leucòcits marcats.

Destaca el punt anòmal d'un índex alt per a l'activitat del fèmur que podria correspondre a un error o a una àrea ROI seleccionada incorrectament.

4.2.4. Grup Global. Aportacions finals

Per les circumstàncies ja plantejades a la metodologia del treball, aquest estudi es va realitzar al llarg del temps de manera fraccionada per no entorpir el ritme de treball a la pràctica diària, així com per racionalitzar els recursos humans i materials al respecte.

En aquest apartat es vol justificar la validesa del resultat mitjançant una comparativa entre els grups establerts en raó de la seva efectivitat diagnòstica. Per aquest motiu, es detallen els valors de l'efectivitat diagnòstica assolida en cada grup i una concordança entre ells mitjançant l'índex Kappa.

Totes aquestes dades es detallen a les taules 33 i 34.

Taula 33. Encert diagnòstic dels leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO en els del grups estudiats.

| Encert diagnòstic | Grup Global | Grup I | Grup II | Grup III |
|--------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Rendiment (%) | 45,1 ($\pm 11,6$) | 62,8 ($\pm 10,1$) | 45,25 ($\pm 12,1$) | 42,2 ($\pm 11,6$) |
| VP | 129 | 32 | 40 | 57 |
| VN | 143 | 44 | 43 | 56 |
| FP | 13 | 3 | 5 | 5 |
| FN | 35 | 8 | 13 | 14 |
| Total estudis | 320 | 87 | 101 | 132 |

VP: Veritable Positiu; VN: Veritable Negatiu; FP: Fals Positiu; FN: Fals Negatiu

Taula 34. Efectivitat diagnòstica i concordança dels leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO en els del grups estudiats.

| Encert diagnòstic | Grup Global | Grup I | Grup II | Grup III |
|--------------------------|--------------------|---------------|----------------|-----------------|
| Sensibilitat | 80,7 | 81,0 | 78,5 | 82,1 |
| Especificitat | 92,1 | 95,5 | 89,1 | 91,4 |
| VPP | 92,0 | 94,4 | 89,8 | 92,3 |
| VPN | 81,3 | 84,3 | 77,3 | 81,4 |
| RV+ | 10,3 | 4,2 | 3,69 | 4,6 |
| RV- | 0,21 | 0,21 | 0,24 | 0,19 |
| Acord global (%) | 86,1 | 88,5 | 83,3 | 86,6 |
| Índex kappa | 0,725 | 0,76 | 0,667 | 0,73 |
| Total estudis | 320 | 87 | 101 | 132 |

VPP: Valor Predictiu Positiu; VPN: Valor Predictiu Negatiu
 RV+: Raó Versemblança Positiva; RV-: Raó Versemblança Negativa

Amb aquestes dades, que ja es justificaran posteriorment a l'apartat de la discussió del treball, es presenta a manera d'una coloraria final una taula descriptiva dels valors estadísticament establerts en les comparatives de cada variable, segons el criteri analític establert.

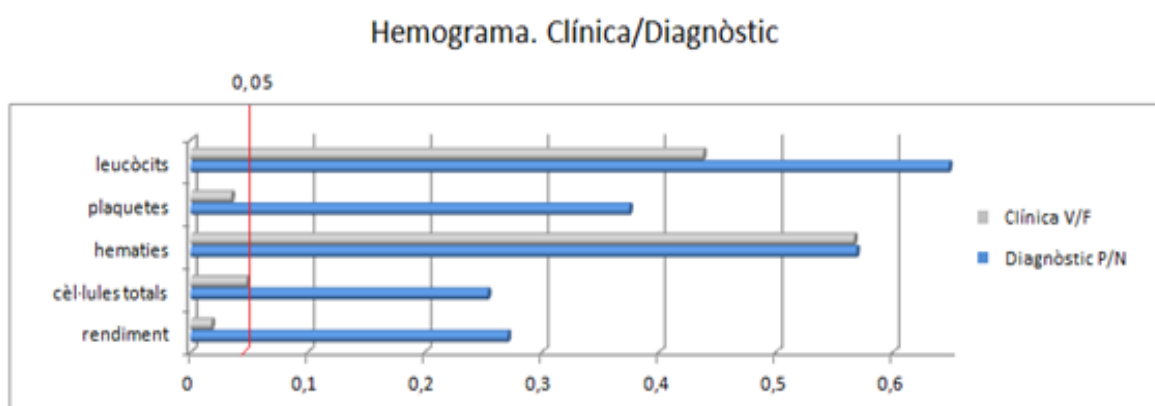
Els detalls de cada variable avaluada i obtinguda segons els criteris diagnòstic gammagràfic i clínics finals per la grup I es descriuen a la taula 35.

Taula 35. Dades descriptives dels valors p obtinguts segons els criteris diagnòstics establerts al grup I.

| Grup I | Criteri gammagràfic | Criteri clínic |
|-------------------------|---------------------|----------------|
| Rendiment del marcatge | 0,271 | 0,018 |
| Cèl·lules totals/dosi | 0,254 | 0,048 |
| Hematies/dosi | 0,569 | 0,567 |
| Plaquetes/dosi | 0,375 | 0,035 |
| Leucòcits/dosi | 0,648 | 0,438 |
| % Limfòcits/Leucòcits | 0,295 | 0,515 |
| % Monòcits/Leucòcits | 0,411 | 0,745 |
| % Neutròfils/Leucòcits | 0,54 | 0,774 |
| Viabilitat leucocitària | 0,321 | 0,605 |

Els únics resultats discrepants van ser els ja esmentats dels valors significatius trobats en el criteri diagnòstic clínic aplicat per al rendiment del marcatge, el nombre total de cèl·lules i el de plaquetes a la dosi (Figura 33).

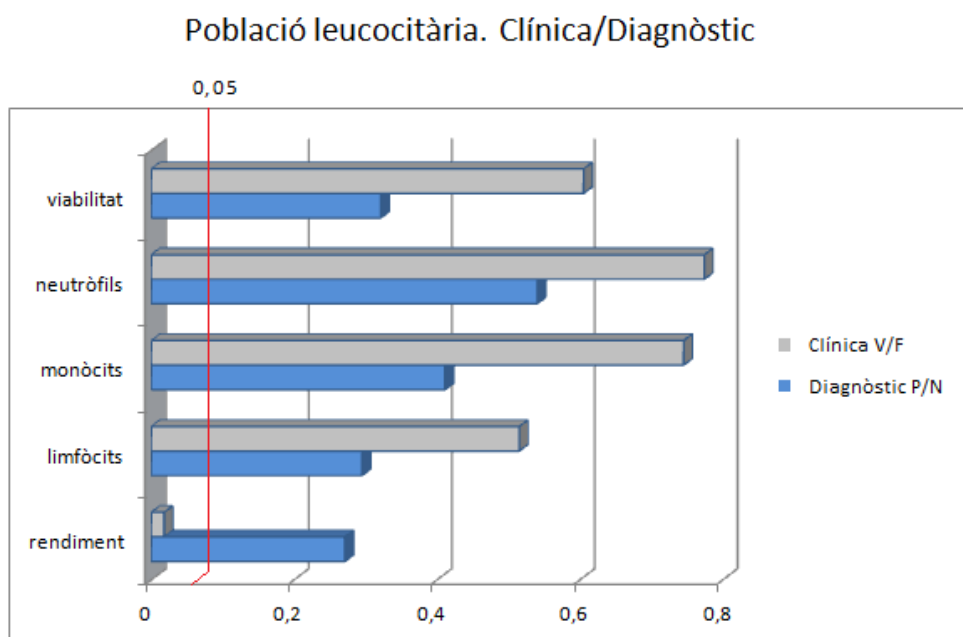
Figura 33. Box/plot de la comparativa dels valors p dels paràmetres cel·lulars segons els criteris diagnòstics en el grup I.



V/F: Veritable/Fals; PN: Positiu/Negatiu

De la mateixa manera, la representació gràfica corresponent als valors p obtinguts per els percentatges de poblacions leucocitàries i la seva viabilitat es detallen a la figura 34.

Figura 34. Box/plot comparativa dels valors p de les poblacions leucocitàries i viabilitat el grup I.



V/F: Veritable/Fals; P/N: Positiu/Negatiu

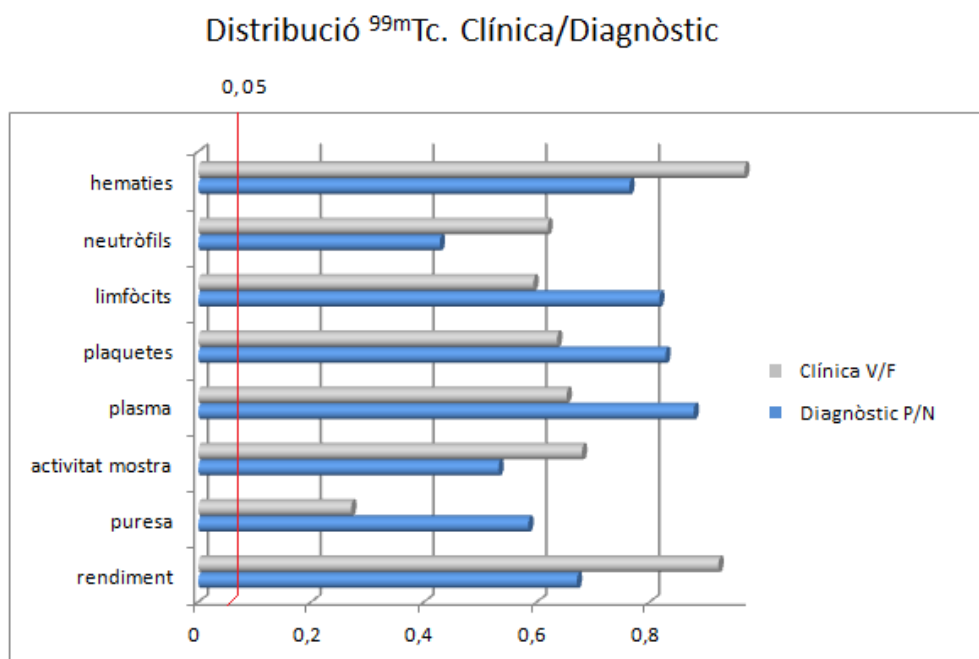
Els detalls de cada variable avaluada i obtinguda segons els criteris diagnòstic gammagràfic i clínics finals per la grup II es descriuen a la taula 36.

Taula 36. Grup II. Dades descriptives dels valors p obtinguts segons els criteris diagnòstics establerts.

| Grup II | Criteri gammagràfic | Criteri clínic |
|-------------------------------|---------------------|----------------|
| Rendiment del marcatge | 0,671 | 0,922 |
| Puresa ^{99m} Tc-MHPO | 0,585 | 0,271 |
| Activitat total mostra | 0,532 | 0,68 |
| % Activitat Plasma | 0,828 | 0,638 |
| % Activitat Plaquetes | 0,878 | 0,636 |
| % Activitat Limfòcits | 0,817 | 0,594 |
| % Activitat Neutròfils | 0,428 | 0,619 |
| % Activitat Hematies | 0,764 | 0,968 |

En aquest control no es van observar diferències estadísticament a destacar. La representació gràfica dels valors obtinguts es poden observar a la figura 35.

Figura 35. Box/plot de la comparativa dels valors de p al grup II.



V/F: Veritable/Fals; P/N: Positiu/Negatiu

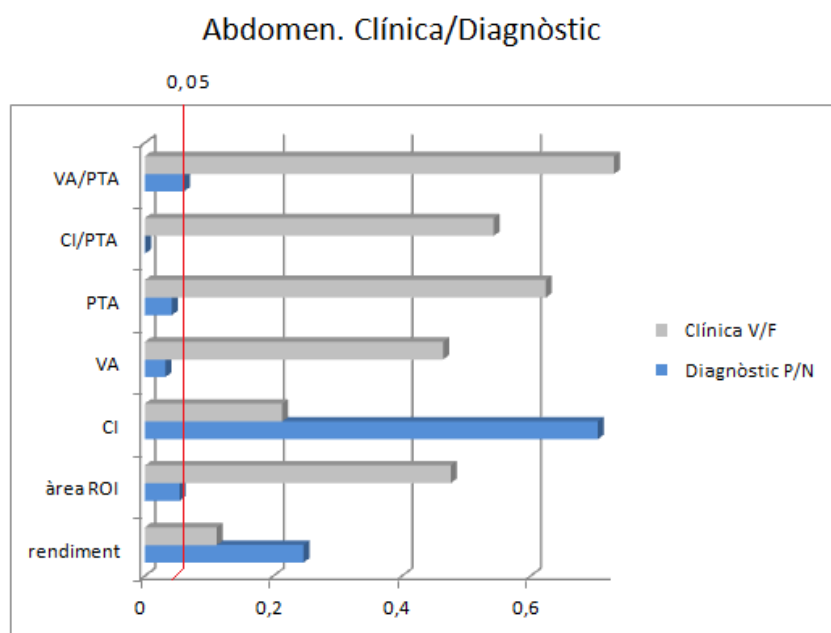
Els detalls de cada paràmetre avaluat i obtingut segons els criteris diagnòstic gammagràfic i clínics finals per la grup IIIA es descriuen a la taula 37.

Taula 37. Grup IIIA. Dades descriptives dels valors p.

| Grup III A | Criteri gammagràfic | Criteri clínic |
|------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Rendiment del marcatge | 0,247 | 0,112 |
| Àrea ROI | 0,054 | 0,476 |
| ROI cresta ilíaca (CI) | 0,705 | 0,214 |
| ROI vasos (VA) | 0,032 | 0,464 |
| ROI parts toves (PTA) | 0,042 | 0,624 |
| CI / PTA | <0,001 | 0,543 |
| VA / PTA | 0,061 | 0,73 |

Cal destacar les diferències ja esmentades dels valors significatius obtinguts a l'índex de relació entre cresta ilíaca i parts toves amb el criteri gammagràfic que no es corrobora amb el clínic, com es pot observar a la figura 36.

Figura 36. Comparativa gràfica dels valors de p en el grup IIIA.



V/F: Veritable/Fals; P/N: Positiu/Negatiu

Els detalls de cada variable avaluat i obtingut segons els criteri diagnòstic gammagràfic i clínics finals per la grup IIIB es descriuen a la taula 38.

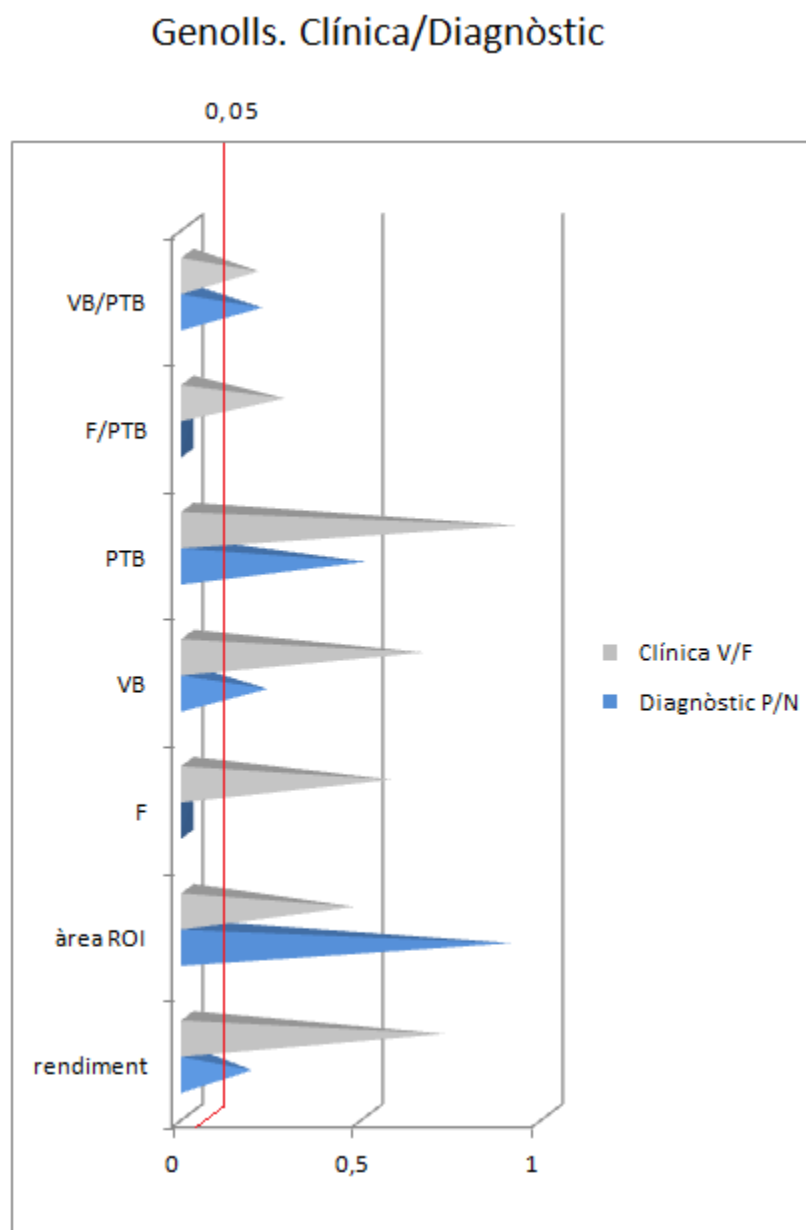
Taula 38. Grup IIIB. Dades descriptives dels valors p.

| Grup III B | Criteri gammagràfic | Criteri clínic |
|------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Rendiment del marcatge | 0,18 | 0,716 |
| Area ROI | 0,901 | 0,466 |
| ROI fèmur (F) | <0,001 | 0,567 |
| ROI vasos (VB) | 0,224 | 0,659 |
| ROI parts toves (PTB) | 0,496 | 0,917 |
| F / PTB | <0,01 | 0,272 |
| VB / PTB | 0,208 | 0,199 |

En aquest cas, cal fer esment també a les diferències ja observades anteriorment a l'activitat de les àrees ROI al fèmur i al seu índex respecte a les parts toves segons el criteri diagnòstic gammagràfic establerts i que no es corrobora amb el clínic.

La representació gràfica d'aquestes dades es poden observar a la figura 37.

Figura 37. Comparativa gràfica dels valors de p obtinguts per al subgrup IIIB.



V/F: Veritable/Fals; P/N: Positiu/Negatiu

5. DISCUSSIÓ

L'efectivitat diagnòstica dels leucòcits marcats ha estat qüestionada per diferents resultats i s'han ideat diferents estratègies per millorar l'encert diagnòstic de la prova, tant en el marcatge com en la detecció ⁹⁵. Ara be, les complexitats metodològiques i recursos tècnics que caldria realitzar i utilitzar, no es solen verificar en la seva posada en marxa per part del centre que el reproduïx.

La metodologia del marcatge dels leucòcits per a la seva aplicació diagnòstica al centres de Medicina Nuclear es va posar en marxa reproduint les recomanacions descrites i promulgades pels propis experts que l'havien dissenyada.

Tampoc hi va haver cap entitat científica rellevant que homologués el procediment de treball, com en altres camps ho han fet el International Committee of Harmonization ⁹⁶ o societats científiques internacionals ⁹⁷. Per aquest motiu, el procediment instaurat estava basat en la lectura científica dels autors consultats i en la pròpia perícia i habilitat personals adquirides, és a dir en l'anomenada pràctica basada en l'evidència.

Per tant, tampoc resultava convincent el fet que només el simple control del rendiment del marcatge establert, sigui el garant de la qualitat de tot el procés realitzat en la pràctica diària d'aquesta exploració diagnòstica.

En el transcurs però d'aquest treball, quan ja estava en ple desenvolupament i enfocant la seva recta final, es van editar les recomanacions del grup de l'European Association Nuclear Medicine (EANM) sobre el procediment de marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc-HMPAO ⁹⁸. Aquest fet, va venir a corroborar l'interès professional en aquest tema, i per tant, l'encert d'aquesta recerca.

5.1. Objectiu principal. Utilitat de l'estratègia de qualitat instaurada

En la present tesi s'ha demostrat que l'estratègia proposada permet verificar totes les variables objectiu establertes: els components cel·lulars, la viabilitat leucocitària i la distribució del ^{99m}Tc entre els components de la dosi, així com

avaluar els seu funcionalisme dins del pacient mitjançant la seva localització als ossos, vasos i parts toves.

Dit això, per donar compliment al principal objectiu establert s'ha pogut verificar la utilitat en la pràctica diària en dues vessants: la primera respecte a la qualitat de la metodologia escollida i la segona per plantejar la seva possible aplicació a la pràctica diària.

Per verificar la bondat de la nostra pròpia metodologia es van comparar els resultats obtinguts de les noves variables determinades segons el dictamen clínic final. És per aquest motiu que es va establir l'efectivitat clínic com referent comparatiu. Els resultats que es van assolir no van estar lluny dels publicats per altres autors ⁹⁹, però sense arribar a l'excel·lència d'uns altres ¹⁰⁰.

Respecte als resultats es va emprar la variable ja establerta del rendiment del marcatge com a referent i per fer de pont entre un indicador habitual de la qualitat del procés i les noves determinacions de la resta de variables. El resultats obtinguts del rendiment del marcatge van confirmar la seva utilitat com a indicador sensible i potent per verificar el procediment realitzat però en canvi va confirmar que per si sol no pot justificar l'encert diagnòstic ja que no es van trobar diferències significatives en el rendiment diagnòstic ¹⁰¹. Malgrat això, ens ha permès identificar desviacions de procediment respecte a les recomanacions de l'EANM.

En concret es va observar una gran variabilitat en el nombre de leucòcits marcats finals i, encara que es podrien esmentar múltiples circumstàncies ¹⁰², es va constatar una tendència en l'obtenció de xifres de leucòcits inferiors als recomanats. En la nostra sèrie el ventall del rang assolit ha esta molt ampli i pacients amb rendiments baixos de marcatge han pogut ser diagnosticats amb encert, la qual cosa fa pensar també que intervenen altres variables, probablement la viabilitat i funcionalisme interindividual dels leucòcits, així com l'impacte d'altres variables clíniques i d'imatge que intervenen en el procés

diagnòstic. En aquest treball es va plantejar observar les variables metodològiques del procediment però no els factors que com les característiques de detecció, temps, tècnica (SPECT, planar, etc) intervenen també en el procés diagnòstic. Queda aquest camp per trobar indicadors més fiables dels que es disposa.

5.1.1. Grup I

5.1.1.1. De la determinació de l'hemograma

La utilitat de la CFM com una eina de control ha permès verificar el nombre total de leucòcits de les diferents poblacions leucocitàries i de la resta de les cèl·lules sanguínies contaminants presents a cada dosi dels pacients ¹⁰³.

Els valors obtinguts i comparats entre els diferents components cel·lulars de les dosis, tant si s'ha aplicat el criteri gammagràfic o clínic, no van permetre observar diferències significatives excepte per al nombre de cèl·lules totals i plaquetes quan es van comparar els resultats segons l'encert diagnòstic.

Aquest fet indica uns límits de qualitat mínima que se situen per sota del 40% en el rendiment del marcatge i a un nombre inferior als 200 milions de leucòcits estimats com a òptims per a l'exploració. Mentre segons les variables comparades a la practica diària del resultat gammagràfic indicaven una tendència a un major nombre de cèl·lules en general quan el resultat era positiu, no es confirmà de forma significativa quan es relaciona amb el rendiment diagnòstic.

L'existència observada d'un major nombre de plaquetes en el grup d'encert diagnòstic pot tenir varies explicacions. Una seria que el percentatge de plaquetes marcades també intervinguin en les processos inflamatoris que solen acompanyar les infeccions ¹⁰⁴ però, per altre part, també podia tractar-se d'una font d'error degut al fet que el botó cel·lular obtingut al final del procés de marcatge va ser diluït posteriorment amb plasma pobre de plaquetes procedents del pacient per

completar un volum de dosi òptim per a la seva administració i aquest plasma, anomenat així, no va ser verificat. Aquest procediment pot ser la causa que justifiqui aquests valors ja que, com es veurà més endavant, el percentatge de les plaquetes marcades va estar en un llindar baix entre els components marcats a la dosi.

Incidint en aquest cas cal esmentar que gràcies als valors obtinguts significatius de major nombre de cèl·lules totals marcades, sense una variabilitat en el nombre de leucòcits significatiu i al fet que els valors del rendiment del marcatge també fossin dispars en el mateix grup estudiat, es va contrastar la metodologia emprada amb les recomanacions publicades per l'EANM.

Així, per verificar desviacions metodològiques es varen constatar: un major volum del separador plasmàtic utilitzat en l'aïllament dels leucòcits del pacient en una proporció de 5:1 en lloc del 10:1 recomanat; una major velocitat de centrifugació lenta de 200 g en comptes de 150 g i una incubació amb una sola agitació. Aquestes variacions metodològiques, a partir de llavors corregides, podrien explicar una major contaminació de plaquetes i un menor nombre de leucòcits finals.

Per altre part es va confirmar que el mètode de marcar els leucòcits amb ^{99m}Tc -HMPAO preservà una alta conservació de la viabilitat cel·lular. La utilitat de la CFM com una eina de control de qualitat va aportar una millor informació verificant el nombre total de leucòcits i els percentatges de subpoblacions, així com mitjançant l'establiment del percentatge de cèl·lules contaminants ¹⁰⁵.

Cal recordar que la contaminació de glòbuls vermells i plaquetes a la dosi final, a més de ser inevitable, és principalment la causa dels contaminants en el procés de marcatge però també pot provenir del plasma, com ja s'ha indicat abans, que s'afegeix al botó cel·lular marcat amb l'objectiu de proporcionar un volum òptim de la dosi administrada al pacient. En el nostre cas, la presència de contaminació al

plasma emprat per diluir la dosi no es va verificar, per la qual cosa no es va poder establir el seu origen amb certesa.

5.1.1.2. De la viabilitat leucocitària

La nova aplicació de la CFM ha permès confirmar individualment en cada dosi l'existència de l'apoptosi cel·lular que s'ha pogut determinar amb més fiabilitat respecte al control establert sobre la viabilitat amb Trypan-blue que es realitza periòdicament a la Unitat de Radiofarmàcia¹⁰⁶. Els resultats obtinguts van confirmar que el procediment de marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc-HMPAO emprat en el nostre centre no alterava la viabilitat leucocitària.

5.1.2. Grup II

5.1.2.1. De la distribució del ^{99m}Tc a la dosi

La utilitat de la separació en la densitat de l'Hystopaque ® 1077 ha permès establir que el percentatge de l'activitat va ser molt variat degut als diferents components presents a la dosi. Fent una descripció segons l'activitat localitzada a les diferents parts de la mostra separada es pot fer, en primer lloc, referència a l'activitat plasmàtica i les plaquetes. L'activitat plasmàtica va ser similar tant aplicant el criteri diagnòstic gammagràfic com clínic.

El percentatge obtingut estava entre l'esperat però en el futur caldria verificar al llarg del temps si aquest valor s'incrementa degut a l'elució del ^{99m}Tc present a les cèl·lules marcades¹⁰⁷. En el nostre cas no es va verificar aquest percentatge amb el temps real de la detecció gammagràfica.

Respecte a les plaquetes es pot establir que es marquen en molt poca proporció, la qual cosa és factible ja que per realitzar el marcatge de les plaquetes amb ^{99m}Tc-HMPAO cal partir d'un medi diferent a l'emprat en aquest procediment¹⁰⁸.

Seguint les fases obtingudes en la separació de la mostra, els limfòcits i els monòcits varen ser la primera població leucocitària aïllada. El percentatge d'activitat localitzada en aquesta fracció representava una part significativa de l'activitat total. Amb aquestes dades, es va poder confirmar que el ^{99m}Tc -HMPAO marcava a la població leucocitària sense distincions entre elles. Mentre que aquesta circumstància afavoreix la seva utilitat en el diagnòstic gammagràfic de les patologies inflamatòries localitzades al budell, pot interferir, en canvi, en la localització d'infeccions quan aquestes coincideixin en la distribució fisiològica dels leucòcits en el cos del pacient.

D'aquí l'interès en realitzar com estratègia diagnòstica el marcatge sols dels neutròfils separats prèviament de la resta de poblacions leucocitàries ¹⁰⁹. Aquest darrer punt presenta actualment inconvenients en la seva aplicació en una Unitat de Radiofarmàcia. Per una part en requerir emprar reactius difícils de trobar amb la qualitat farmacèutica necessària i, per una altra, la complicació que implica realitzar un procediment més llarg.

A favor d'aquesta estratègia també juga el fet d'evitar administrar limfòcits marcats al pacient susceptibles de patir més dany cel·lular per efectes de la radiació del ^{99m}Tc -HMPAO ¹¹⁰, com també evitar així l'activitat plasmàtica circulant per efecte de la seva elució.

A la darrera fase de la separació de la mostra es localitzen els neutròfils i les hematies en una mateixa fracció degut a tenir densitats semblants i que són difícils de separar. L'estratègia aplicada en aquest cas per obtenir l'activitat deguda a cada component es va basar en realitzar una hemòlisi de les hematies i fer una separació per centrifugació dels neutròfils de les hematies lesionades que varen quedar localitzades en el sobrenedant.

El percentatge obtingut degut a les hematies va ser discutible per aquest procediment i en conseqüència no va impactar negativament en la interpretació de les imatges ¹¹¹, ja que no es van assolir nivells suficients per visualitzar la

silueta cardíaca del pacient, com així passa en els estudis d'hematies marcats ¹¹² amb ^{99m}Tc.

En aquest grup cal dir que a pesar d'aquesta limitació metodològica el procediment realitzat va servir per verificar la localització de l'activitat a la resta dels components de la dosi, donant per cert un major percentatge del marcatge als neutròfils.

5.1.2.2. De la puresa del precursor ^{99m}Tc-HMPAO

Aquest control es va implantar en aquest grup per verificar i descartar desviacions en els resultats obtinguts degudes a les impureses del ^{99m}Tc-HMPAO, precursor del marcatge que, com ja s'ha esmentat abans, cal emprar en una preparació extemporània recent i d'alta activitat específica. Els resultats obtinguts van verificar i confirmar els valors esperats.

5.1.3. Grup III

En el tercer grup es varen confirmar que els leucòcits administrats es van distribuir principalment en el SFM a nivell tissular en els ossos rics en medul·la vermella i en la melsa.

Atès que el seu funcionalisme venia confirmat per la viabilitat cel·lular obtinguda es va interpretar la seva localització com a fisiològica en ocupar el mateix compartiment que el de les cèl·lules del SFM ¹¹³, mentre que la presència d'activitat intravascular correspondria als components marcats de la dosi circulants.

D'altra banda, en tractar-se d'un marcatge mixt de leucòcits, tant els limfòcits com els neutròfils ocuparien el mateix lloc en el seva biodistribució fisiològica en el pacient i això contribuiria a una pèrdua d'especificitat dels neutròfils en la detecció

patològica de les infeccions ¹¹⁴. No és possible diferenciar la diferent biodistribució de neutròfils i limfòcits i si aquesta pot influir en el rendiment diagnòstic de la prova.

També es va observar, a través de les imatges obtingudes, que l'activitat fisiològica localitzada en els ossos quedava relativitzada, en alguns casos, per l'activitat present en els vasos sanguinis de gran calibre, la qual cosa reflecteix la possible presència de les cèl·lules no leucocitàries marcades en la dosi administrada.

5.1.3.1. De la localització de la dosi a l'abdomen

Les millors imatges vers la biodistribució de la dosi en el pacient es varen obtenir en aquesta projecció en l'activitat que es va detectar als cossos vertebrals, costelles, estructura pèlvica i caps femoral, a més de quedar ben contrastades amb la resta d'estructures del cos del pacient.

Es va confirmar que l'elecció de la cresta ilíaca com a lloc de referència de la localització dels leucòcits marcats va permetre disposar dels millors comptatges d'activitat amb exclusió d'altres àrees de captació lindanes.

A la interpretació dels valors obtinguts de captació a la cresta ilíaca, vasos i parts toves, també cal fer esment d'altres factors deguts a la metodologia emprada. Així la major activitat localitzada a la cresta ilíaca era deguda també al fet d'estar aquesta localitzada més a prop del detector respecte a les altres, la qual cosa afavoreix un major nombre de comptes; però la seva idoneïtat va quedar corroborada per la captació als cossos vertebral que continuava essent més elevada que les activitats en vasos i parts toves, a pesar d'estar en el pla més inferior del detector ¹¹⁵.

Dit això, es va constatar però que la detecció planar a l'abdomen presentava limitacions metodològiques degudes a les diferents distàncies entre el detector i

les diferents profunditats de les zones corporals i per aquest motiu també es va confirmar la utilitat d'haver establert l'índex de ponderació entre les àrees (per evidenciar millor les diferents localitzacions dels components de la dosi al cos del pacient) ¹¹⁶.

Per altre part es va evidenciar la limitació de la tècnica quan la zona patològica objecte de l'estudi coincidia amb la localització fisiològica dels leucòcits en el SFM, la qual cosa podria emascarar la seva interpretació, essent una justificació dels casos falsos negatius establerts en les patologies estudiades de les pròtesis de maluc en els seus components acetabular i femoral ¹¹⁷.

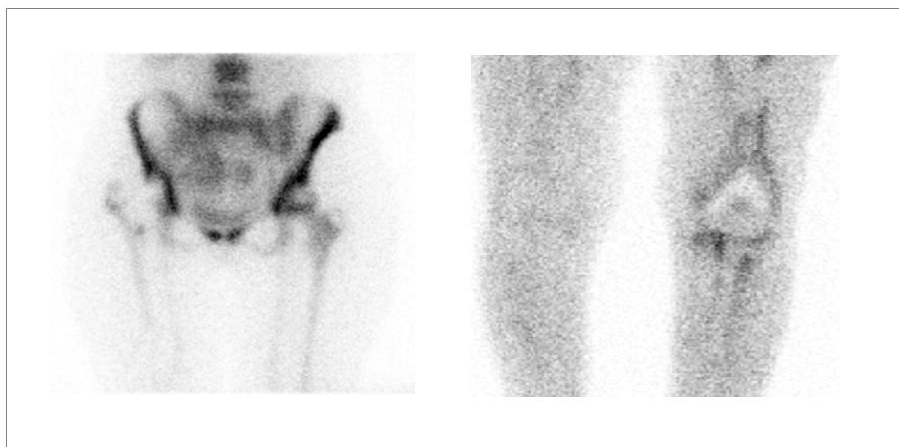
5.1.3.2. De la localització de la dosi als genolls

En aquest grup també cal fer esment que els índexs d'activitat al fèmur varen ser significatius en la detecció dels casos positius a la gammagrafia però que no es va traduir el mateix en el casos d'encert del diagnòstic clínic.

En aquest grup d'estudi totes les deteccions es van realitzar a les 4 hores postadministració de la dosi.

En aquesta localització l'estructura òssia observada no és rica en el SFM ni en medul·la vermella i no s'espera una localització fisiològica dels leucòcits marcats d'alta intensitat. Mentre que a la imatge abdominal l'activitat a les crestes ilíaqües és de major intensitat, en la imatge al genolls l'activitat a l'os no té la mateixa intensitat i queda més difuminada que en el cas anterior, com es pot observar a la figura 38.

Figura 38. Imatges per evidenciar les diferents intensitats de captació segons siguin el tipus d'ossos presents a la zona detectada.



Ara bé, en contrast, la localització patològica del leucòcits va ser més fàcil d'identificar en no presentar emmascarament amb zones de localització fisiològica i, per tant, tal com ja s'ha suggerit abans el mateix procés infecciós o inflamatori que presentava el pacient podria justificar aquesta localització ¹¹⁸.

En el cas contrari una manca d'activitat a l'estructura òssia o inclús una manca d'activitat generalitzada a la zona pot fer-la atribuïble a una mala qualitat del marcatge. Es va verificar que si es feia una simple detecció a la pelvis la localització dels leucòcits a la cresta ilíaca era l'esperada per confirmar el funcionalisme del leucòcits marcats administrats.

A partir d'aquí, es va plantejar realitzar al mateix temps un rastreig de cos sencer o si més no practicar un rastreig que abastés alhora els dos camps d'interès per a l'estudi proposat del funcionalisme dels leucòcits marcats: els ossos rics en medul·la vermella i SFM i els ossos empobrits en ells.

Aquesta proposta es detalla més endavant a l'apartat de les aportacions futures del treball al final d'aquest capítol i amb ella s'espera poder estudiar i verificar el funcionalisme dels leucòcits marcats de manera objectiva sense recórrer a

metodologies més complexes com la descrita in vitro per a la determinació de la quimiotaxis ¹¹⁹.

Una nova captació a les 24 hores ¹²⁰, un estudi gammagràfic del sistema reticuloendotelial amb ^{99m}Tc col·loïdal¹²¹ o bé una selecció mitjançant angiogammagrafia¹²² han estat proposats per millorar la seva efectivitat diagnòstica. En el nostre cas aquestes maniobres no es van considerar necessàries per a obtenir el diagnòstic clínic final.

5.1.4. Utilitat global de l'estudi

A la unitat de Radiofarmàcia li recau realitzar el marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc-HMPAO segons el compliment estricte del procediment protocol·litzat per garantir la seva qualitat. Malgrat això, l'operador que realitza el marcatge no pot aportar dades vers el nombre de leucòcits marcats finals presents a la dosi, ni la inevitable quantitat contaminant de la resta d'altres components cel·lulars sanguinis, ni tampoc la distribució del marcatge entre ells.

Conseqüentment, resulta difícil garantir la mateixa biodistribució entre pacients un cop s'administra la dosi. D'aquesta manera, les dades d'aquestes variables no poden ser determinades ni qualitativa ni quantitativament per no poder-ho realitzar rutinàriament.

Al tractar-se de dues entitats professionals diferents i alhora dependents entre elles com són les especialitats de Radiofarmàcia i Medicina Nuclear implicades en el mateix procediment diagnòstic de l'exploració, cal establir un clima de confiança que justifiqui la qualitat del procediment realitzat per garantir el diagnòstic final establert, ja que una es responsabilitza del marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc-HMPAO mentre que l'altre es responsabilitza de la detecció gammagràfica i la seva significació clínic. Amb una nova estratègia de qualitat com la que es proposa s'espera millorar la confiança entre els professionals implicats.

En aquest treball s'ha demostrat que l'estratègia proposada permet verificar totes les variables objectiu de la recerca mitjançant la metodologia establerta. Aquestes dades vénen a completar la informació de totes aquestes variables que des de la Unitat de Radiofarmàcia es volia aportar per justificar la bona pràctica i la qualitat del procediment realitzat, donat que es va partir d'una posada en marxa basada en la metodologia proposada per experts.

Es va poder avaluar la relació de les variables segons els resultats positius o negatius del diagnòstic gammagràfic i també la possible relació entre les variables de qualitat i la taxa d'encert diagnòstic.

En concret es va observar una gran variabilitat en el nombre de leucòcits marcats finals i encara que es podrien esmentar connotacions de múltiples circumstàncies, sembla que hi va haver una tendència en l'obtenció de xifres de leucòcits inferiors als recomanats.

En la nostra sèrie el ventall del rang assolit va ser molt ampli i pacients amb rendiments baixos de marcatge varen ser diagnosticats amb encert. Amb valors més baixos al 40% recomanat es varen constatar encerts diagnòstics i a la seva inversa també, però en canvi no es va arribar a establir una relació directa i significativa entre el rendiment i la taxa d'encert diagnòstic.

A favor de la nostra metodologia aquesta variabilitat no es va interpretar com una desviació deguda als procediments realitzats per els operadors, donada la baixa proporcionalitat de valors atípics obtinguts amb les variables estudiades, si no més aviat al disseny del procediment elaborat o bé a altres variables inherents a les pròpies limitacions de l'exploració diagnòstica ¹²³.

Compaginar les dades obtingudes amb les recomanacions de l'EANM ha servit per avaluar millor els resultats i a la vegada plantejar nous criteris i arguments metodològics als ja establerts. Cal ressaltar que l'estratègia proposada en aquesta tesi doctoral no figura entre les metodologies establertes en les seves

recomanacions i que d'haver estat coneguda aquesta proposta hauria estat mereixedora de la seva crítica i avaluació.

Una aportació per part de l'EANM que, d'haver estat coneguda a temps, hauria valgut la pena d'avaluar, són els criteris exposats per avaluar als operadors, sent de principal interès el control de la proporcionalitat de les cèl·lules en cada pas dels procediments, així com el control del ^{99m}Tc eluït a la dosi en temps real en paral·lel al temps de la detecció ¹²⁴.

Aquestes variables tindrien transcendència en el cas de diagnòstics gammagràfic falsos negatius per una manca en la quantitat de leucòcits marcats, tant en la detecció abdominal com a les localitzacions osteo-articulars, i que es van confirmar posteriorment en els casos falsos negatius de la nostra mostra. Falsos negatius que es van poder objectivar, en la majoria dels casos de la nostra casuística, gràcies a l'aïllament dels agents patògens causants ¹²⁵.

Per altre part, els casos falsos positius detectats ho han estat per la dificultat de diferenciar els estats inflamatoris dels infecciosos i que en aquest cas difícilment podria ser detectat a través dels nous controls. Ha quedat el dubte de si el petit percentatge de plaquetes marcades podrien ser la causa d'aquest error per localitzar-se en els processos inflamatoris i contribuir-hi a emascarar el criteri diagnòstic.

A la unitat de Radiofarmàcia li recau realitzar el marcatge dels leucòcits amb ^{99m}Tc -HMPAO segons el compliment estricte del procediment protocol·litzat per garantir la seva qualitat. Malgrat això, l'operador que realitza el marcatge no pot aportar dades vers el nombre de leucòcits marcats finals presents a la dosi, ni la inevitable quantitat contaminant de la resta d'altres components cel·lulars sanguinis, ni tampoc la distribució del marcatge entre ells. Conseqüentment, resulta difícil garantir la mateixa biodistribució entre pacients un cop s'administra la dosi. D'aquesta manera, les dades d'aquestes variables no poden ser

determinades ni qualitativa ni quantitativament per no poder-ho realitzar rutinàriament.

També cal destacar que verificada la qualitat realitzada en el procediment del marcatge, caldrà tenir en compte el funcionalisme del leucòcits marcats dins el cos del pacient i el fet que com a tals també ocuparan un espai dins el cos en consonància a la seva localització fisiològica. La seva distribució en el SFM, primordialment a la melsa i als ossos plans, pot originar que les infeccions es localitzin i/o es solapin en aquests llocs, on difícilment seran fàcils de diferenciar entre els components patològic i el fisiològic. S'espera si la ponderació d'índexs d'activitat a les zones establertes puguin aportar més informació al respecte.

5.2. Objectius secundaris. Utilitat de la Metodologia aplicada

Per donar compliment al principal objectiu del treball es va aplicar la nova estratègia de qualitat proposada per verificar la nostra pròpia metodologia amb la finalitat de plantejar la seva possible aplicació a la pràctica diària.

Amb aquesta finalitat es discuteix la seva utilitat derivada dels resultats obtinguts en la seva aplicació en aquesta tesi. Caldria recordar aquí que la mostra de pacients estudiats malgrat d'haver conformat diferents grups, com ja s'ha indicat abans, van presentar una concordança en la seva efectivitat diagnòstica com es va fet patent en el percentatge d'encerts diagnòstics i evidenciat a través de l'índex Kappa obtingut.

5.2.1. Determinacions al grup I

5.2.1.1. Citometria de flux multiparamètrica

En el nostre estudi la CFM s'ha comprovat que és una tècnica ràpida i eficaç d'anàlisi ¹²⁶ que requereix petites mostres (50 µl), el que representa en el nostre

cas fins un màxim del 3% del volum total de la dosi, i l'activitat radioactiva exempta de mesures de protecció radiològica, ja que no excedeixi els 10 MBq de ^{99m}Tc ¹²⁷. D'altra banda, cal destacar que MFC permet l'anàlisi d'un nombre estadísticament significatiu de cèl·lules (de 1.000 a més de 100.000 cèl·lules) en un temps curt (5.000 esdeveniments), i permet l'avaluació quantitativa i la identificació de les cèl·lules sanguínies diferenciades ¹²⁸.

Com es proposa en aquesta tesi doctoral, per validar l'ús d'aquesta nova metodologia CFM com una eina per al control de qualitat es va evitar deliberadament realitzar mètodes que podrien comprometre l'estabilitat de la mostra durant el procés ¹²⁹. Els resultats dels controls establerts en la selectivitat i precisió van servir per validar aquesta nova eina per al control de l'hemograma i la viabilitat amb uns resultats acceptables per a la seva pràctica diària.

El desenvolupament pràctic de la metodologia proposada no implica dificultats tècniques significatives ni durant el processament de mostreig ni en l'anàlisi dels tipus de cèl·lules. La determinació dels tipus de cèl·lules és ràpid i fàcil i el sistema proporciona el resultat a la mateixa pantalla gràfica de l'equip del citòmetre. Les diferències en la precisió observada entre els valors dels coeficients de variació en un paràmetre segon siguin expressats en percentatges o recomptes absoluts, en general es deuen a errors en la manipulació i quantificació de les microesferes.

5.2.1.1.1. A l'hemograma

La CFM ens ha permès determinar un hemograma complet en qualitat i quantitat de totes les cèl·lules presents a la dosi i la viabilitat cel·lular com era l'objectiu a complir. Els resultats obtinguts amb l'hemograma van poder verificar la proporció entre cada component cel·lular de la dosi. La seva determinació permet establir la proporcionalitat entre elles així com entre les poblacions leucocitàries.

5.2.1.1.2. A la viabilitat

Aquesta metodologia aporta una gran fiabilitat i dona una major credibilitat a la tècnica habitual donat que emprava un gran nombre de determinacions per a la seva quantificació. Les dades es van establir en percentatges i no en cèl·lules absolutes per mantenir el mateix criteri amb la metodologia anterior i per donar uns resultats més precisos.

Cal esmentar, també la millora que aporta la CFM en la certesa dels resultats en quantificar un nombre molt més alt de cèl·lules que pel sistema òptic habitualment realitzat.

5.2.2. Determinacions al grup II

5.2.2.1. Separació per densitats

Els resultats es van expressar en forma de percentatges d'activitat localitzada a cada component de la dosi respecte el total de l'activitat de la mostra. Encara que aquesta metodologia va permetre obtenir la distribució dels components marcats a la dosi cal esmentar que presenta limitacions per quantificar amb més exactitud el percentatge real corresponent a neutròfils i hematies. La qual cosa justificaria la recerca de millors metodologies per aquest control, donada la seva rellevància en justificar la localització i detecció dels comportaments de la dosi dins el pacient.

5.2.2.2. Separació isòmers ^{99m}Tc -HMPAO

Aquesta metodologia, ja emprada abans de la proposta de la nova estratègia establerta, es va constituir com un control intern del procediment realitzat i va justificar els resultats obtinguts. També va ser motiu d'una petita modificació per facilitar-ne la separació de les fases immiscibles salina i clorofòrmica.

Va consistir en afegir a la fase salina unes gotes de la solució de Trypan-blue, usat per al control al microscopi de la viabilitat leucocitària, amb la finalitat de fer més visible la separació entre les dues fases i millorar la seva separació. Aquesta modificació va permetre garantir la separació, facilitant la interpretació dels operadors.

5.2.3. Determinacions al grup III

5.2.3.1. A les imatges gammagràfiques

Per assegurar la qualitat en el procés d'obtenció d'imatges, s'hauria de comprovar que el pacient ha seguit les recomanacions d'ingerir suficient líquid durant la seva estada a Medicina Nuclear, amb la finalitat d'eliminar l'activitat romanent en bufeta i concomitantment l'activitat romanent en els vasos ¹³⁰.

La detecció planar realitzada sobre la zona patològica del pacient objecte de l'estudi no sempre permet obtenir una distribució fisiològica de la localització dels components de la dosi i en aquest treball es va evidenciar la millora que reportaria obtenir en una mateixa imatge la captació a l'os pla i al llarg, diferenciats per el seu contingut en SFM i medul·la vermella.

La generalització d'estudis SPECT-TC millorarà la valoració de la distribució anatòmica de les cèl·lules marcades i permetrà una millor diferenciació de les localitzacions patològiques.

5.2.3.1.1. A l'abdomen

De mantenir-se el procediment actual d'obtenció d'imatges planar a l'abdomen quan la patologia estudiada així ho requereixi, la localització dels leucòcits marcats a la cresta ilíaca hauria de ser suficient per avaluar el funcionalisme dels leucòcits administrats.

Els índexs proposats de quantificació amb les àrees de les parts toves i vasos haurien de predir el seu bon funcionalisme. Índexs superiors a la unitat indicarien un bon compliment del procediment realitzat, independentment del nombre de leucòcits marcats, i valors molt superiors a la unitat seria indicatiu d'un resultat fiable de la gammagrafia.

5.2.3.1.2. Als genolls

Tal com s'ha esmentat anteriorment, la localització fisiològica en els ossos llargs no és probable que sigui molt més superior que a les altres àrees estudiades de les parts toves i inclús potser inferior als vasos. De mantenir la mateixa estratègia de practicar sols una detecció planar als genolls i davant el dubte d'una manca d'activitat per mal marcatge fóra aconsellable, com s'ha suggerit abans, practicar una detecció a l'abdomen del pacient per verificar la captació a les crestes ilíiaques.

5.2.4. Global de la metodologia de l'estudi

Una sincronització de tots aquests controls en la mateixa dosi, haurien estat les condicions ideals per obtenir millor encara la seva transcendència pràctica. Una bona coordinació faria factible obtenir els resultats abans que el pacient sortís del centre una vegada ha finalitzat l'exploració i permetria al facultatiu responsable verificar més dades d'interpretació clínica.

Amb aquest treball s'espera aportar una nova estratègia de qualitat per detectar possibles errors en el procediment de marcatge. Amb aquest fi, El sistema no implica una pèrdua significativa de la dosi ni una demora en l'atenció del pacient i que les dades es poden facilitar al facultatiu responsable amb temps suficient abans d'establir el seu diagnòstic clínic.

Lla nova estratègia evita un exhaustiu nombre de controls finals i no posa en entredit la prova per una pèrdua important de la dosi a administrar. Tampoc representa cap pèrdua del ritme seqüencial de la prova.

En contraposició dels controls inicialment descrits en una detecció a les àrees pulmonars i abdominals i a la prova de recuperació, s'han assolit mitjançant la detecció més tardana a l'abdomen i genolls dels pacients.

Així mentre la detecció inicial als 30 minuts post administració de la dosi, permet observar una retenció fisiològica dels leucòcits marcats a la regió pulmonar indicadora del seu bon funcionalisme i si la detecció es fa sobre la zona abdominal, per verificar si la captació esplènica és el lloc de major activitat vers el fetge com indicador de la bona distribució, es requereix en tots dos casos, realitzar una detecció addicional al pacient a més de les que cal fer per a l'estudi de la seva patologia de 2 hores post administració de la dosi en el cas de patologies inflamatòries al budell o a les 4-24 h en els processos infecciosos ¹³¹.

Amb la nova proposta es pretén aprofitar la darrera detecció de l'abdomen com a referent del bon funcionalisme dels leucòcits marcats. En els cas que la patologia del pacient es localitzi fora d'aquesta zona en la proposta establerta és imprescindible realitzar la detecció a l'abdomen per justificar el bon funcionalisme dels leucòcits marcats.

En aquest estudi, les deteccions s'han realitzat en format planar, col·locant el detector en projeccions anterior i posterior regularment. Si la patologia a estudiar ho requereix, s'ha d'ampliar l'exploració amb noves deteccions laterals i obliqües. En els casos en que la zona d'estudi no sigui vers l'àrea abdominal, en l'estratègia proposada, caldria aprofitar el posicionament del pacient a l'equip detector a la darrera detecció, sense tenir que moure'l, per realitzar una nova adquisició anterior de l'activitat a l'abdomen, a fi de justificar millor la localització dels leucòcits als ossos rics en medul·la roja i en el SFM.

Encara que les imatges planars han estat desbancades actualment per les imatges SPECT i compaginades amb imatges amb TAC per presentar limitacions en les localitzacions de focus patològics, tot i encara en el supòsit d'un rigorós compliment dels procediments de marcatge i detecció, el manteniment de l'estratègia proposada continuaria essent vigent per validar el funcionalisme dels leucòcits marcats mantenint les àrees descrites en aquest treball ¹³².

5.3. Aplicació pràctica

5.3.1. Transcendència pràctica

Resultats de CFM es poden obtenir en 30 minuts de forma rutinària mitjançant la coordinació apropiada, oferint una eina de control de qualitat ràpida per cèl·lules marcades durant l'adquisició i generació d'informes d'imatge.

La determinació de la distribució de l'activitat de ^{99m}Tc de cada component a la dosi comporta més temps, però que no supera un màxim de 2 hores que és el temps mínim que cal transcórrer per obtenir imatges gammagràfiques del pacient en els casos de la localització de la patologia al budell, mentre que el marge és molt més superior quan es tracta de patologies infeccioses que requereixen fins a 8-24 hores.

En quant a la detecció l'únic requisit plantejat és realitzar una nova detecció al pacient sobre el seu abdomen, sols en el cas de dubtes de la localització dels leucòcits marcats a les patologies de les cames, amb la finalitat de verificar el funcionalisme a través de la seva localització fisiològica a la cresta ilíaca o a un altre os pla ric en medul·la vermella i SFM.

El temps que es requereix per realitzar aquesta comprovació pot variar si es pretén quantificar o simplement visualitzar a través del monitor, per confirmar-ho visualment. En tot cas aquesta nova detecció no hauria de sobrepassar en més de 5 minuts l'estada del pacient al centre.

5.3.2. Mostres radioactives

Totes les determinacions que cal practicar amb la nova proposta es poden realitzar a les dependències de la instal·lació radioactiva del centre, excepte en el cas de la determinació al citòmetre de flux, que cal remetre la mostra a les dependències externes a la instal·lació.

Per a la determinació de la distribució de la radioactivitat a la mostra cal partir d'una mostra de la dosi vers els 100 μ Ci (3,7MBq). Activitats inferiors posen en risc el fet de no obtenir valors creïbles a pesar de la sensibilitat de l'activímetre emprat ¹³³.

Per altre part, per no contravenir les normatives en radioprotecció, cal no superar els 10 MBq d'activitat de la mostra en ^{99m}Tc per poder ser transmesa a la Unitat externa que disposi del citòmetre de flux. Per realitzar-ho cal mesurar la mostra remesa a l'activímetre abans del seu enviament.

5.3.3. Pèrdua de la dosi

L'activitat de la dosi que cal utilitzar per realitzar els controls recau en les determinacions in vitro de la proposta plantejada, ja que els controls gammagràfics es realitzen directament sobre el pacient.

Tal com s'ha exposat a l'apartat anterior, la quantitat de mostra requerida per efectuar l'analítica al citòmetre no pot superar els 10 MBq i l'activitat mínima per realitzar el control de la distribució del ^{99m}Tc és de 3,7 MBq. Considerant un valor promig de 15 MBq per realitzar tots els controls proposats, representaria un màxim del 5% de la dosi del pacient.

A efectes de no haver de realitzar dilucions de la mostra a remetre al citòmetre, si es té la precaució de dispensar les dosis en un volum de 5 ml, pot representar una pèrdua promig de 0,25 ml per realitzar l'estudi complert.

5.3.4. Factor temps

Tal com s'ha esmentat abans, la realització de les determinacions dels controls proposats, es realitzarien durant l'estada del pacient al centre. Solament en el cas que la detecció de la patologia del pacient estigues localitzada a les extremitats caldria realitzar, segons la proposta de la nova estratègia, una nova detecció a l'abdomen per verificar el funcionalisme dels leucòcits marcats en la cresta ilíaca i que, com s'ha detallat abans, no hauria d'incrementar més de 5 minuts l'estada del pacient al centre.

5.3.5. Lliurament dels resultats

Els resultats del citòmetre es poden obtenir als 30 minuts d'haver-ne tramès la mostra i la distribució de la radioactivitat a la dosi del pacient abans de 2 hores després de l'administració de la dosi. Els resultats corresponents a les deteccions gammagràfiques comporta uns altres 30 minuts per establir les àrees ROI d'interès i la seva quantificació.

Tenir tots els resultats comporta una coordinació entre la realització de tots els procediments però són factibles de ser lliurats abans d'interpretar les imatges i redactar l'informe gammagràfic.

5.4. Limitacions

La principal limitació d'aquest mètode és la disponibilitat d'una instal·lació amb un citòmetre de flux i la seva disponibilitat per realitzar aquesta nova aplicació analítica.

També cal esmentar que es requereix d'una planificació del treball acurada i la coordinació entre la recollida de les mostres i la seva realització en les

determinacions in vitro, si més no a l'haver altres dependències implicades en el procés.

Hi ha limitacions tècniques com la determinació de la fracció conjunta dels hematies i neutròfils marcats i la seva separació posterior que no ha permès disposar de resultats fiables i que caldria substituir aquesta metodologia per un altre sistema més efectiu.

Finalment, fer notar les limitacions de les deteccions planars que requereixen de practicar diferents projeccions, per a una millor localització de les patologies i que en el cas de la detecció a les extremitats no van permeten avaluar la localització fisiològica dels leucòcits marcats i, tal com ja s'ha descrit abans, per donar compliment a l'estratègia proposada caldria realitzar una darrera detecció als ossos rics en medul·la vermella i SFM.

Per les circumstàncies ja descrites en la planificació d'aquesta tesi no s'ha pogut realitzar la determinació d'aquestes variables a un mateix pacient. D' haver-ho fet es podria haver trobat més correlació entre les variables estudiades.

Com s'ha esmentat abans, els possibles defectes metodològics davant un resultat negatiu a la gammagrafia , els nous controls haurien pogut descartar un possible cas de fals diagnòstic en una sospita d'infecció de pròtesi de genoll, posem per cas, de mantenir un nombre suficient de leucòcits marcats, una excel·lent viabilitat, una elució discreta del ^{99m}Tc , una distribució esperada a les crestes ilíaqües i sense una activitat vascular circulant incrementada, malgrat que el rendiment de marcatge hagués estat per sota del llindar de referència esperat.

En el cas contrari, davant d'un cas positiu, segons els resultats de la nostra casuística per descartar un resultat fals caldria verificar el nombre de plaquetes i el seu marcatge.

5.4.1. Mostra estudiada

Per les circumstàncies esmentades en el transcurs del treball, la mostra de la població estudiada ha estat limitada a la coordinació entre la demanda clínica i els recursos humans i tècnics del centre. Mentre que l'avaluació entre les variables estudiades ha estat el nombre suficient de casos semblants en quan s'ha emprat el criteri de comparació entre els resultats positius i negatius segons el diagnòstic gammagràfic, no ha estat així quan s'han comparat amb el criteri clínic. Un increment desitjable de la casuística hauria comportat un major endarreriment en l'avaluació dels resultats.

5.4.2. Rigor metodològic per validar tota la metodologia aportada

La realització d'aquest estudi, de manera fraccionada per les justificacions establertes i comentades anteriorment, no ha permès disposar de dades conjuntes de totes les variables estudiades en la mateixa mostra de la població. Aquest fraccionament ha repercutit també conjuntament amb altres circumstàncies en no disposar d'una major casuística que hauria millorat la potència estadística de l'estudi.

5.4.3. Control vers l'operador

En aquesta recerca no s'havia plantejat establir controls sobre les habilitats dels operaris i en aquest aspecte semblen molt encertades les recomanacions exposades per part de l'EAMN sobre aquest tema i que ja s'han comentat anteriorment en aquest estudi.

5.4.4. Cost econòmic i en recursos

En utilitzar els equips humans i materials del propi centre les despeses econòmiques no han representat un increment del pressupost de la metodologia realitzada, a excepció del reactiu Histopaque®.

5.5. Principals aportacions

5.5.1. Pràctica diària

Es pretén amb la nova estratègia proposada mesurar les variables que a la pràctica diària són difícils de percebre i que a la llarga podrien derivar en una desviació del procediment protocol·litzat.

Tanmateix es pretén verificar la seva utilitat com a nous indicadors de la qualitat en la pràctica diària sobretot les degudes a canvis de reactius, lots, equips, procediments i operadors, així com també permetrà evidenciar el compliment del procés realitzat per a cada dosi i per a cada operador que el realitzi.

Un correcte compliment dels procediments de treball, justificaria la qualitat del procés establert i faria recaure en les pròpies limitacions de la prova diagnòstica i/o en les circumstàncies personals de cada pacient, les possibles causes de la pèrdua de l'encert diagnòstic.

Les determinacions de les variables objectes de l'estudi són factibles de ser determinades per a cada dosi i pacient dels estudis diagnòstics amb els leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO.

També cal destacar que verificada la qualitat realitzada en el procediment del marcatge, caldrà tenir en compte el funcionalisme del leucòcits marcats dins el cos del pacient i el fet que com a tals també ocuparan un espai dins el cos en consonància a la seva localització fisiològica.

La seva distribució en el SFM, primordialment a la melsa i als ossos plans, pot originar que les infeccions es localitzin i/o es solapin en aquests llocs, on difícilment seran fàcils de diferenciar entre els components patològic i el fisiològic. S'espera si la ponderació d'índexs d'activitat a les zones establertes puguin aportar més informació al respecte.

5.5.2. Abans de protocol·litzar

En el transcurs del temps amb l'experiència adquirida i la pràctica contrastada diària es van introduint variables metodològiques que no solen ser validades. La determinació d'aquestes variables poden contribuir a facilitar-ne la validació dels canvis que es proposin abans de la seva protocol·lització definitiva.

5.5.3. Avaluar desviacions metodològiques

En el mateix sentit que l'apartat anterior per vetllar en el compliment del protocols establerts, la determinació de totes aquestes variables permetrien avaluar possibles desviacions metodològiques del propi procediment protocol·litzat o respecte a les recomanacions establertes en la bibliografia científica.

5.5.4. Avaluació procediments

D'altra banda també serveixen per avaluar el procediment en cas que s'efectuen canvis en els reactius, metodologies o simplement canvis dels operadors. Està recomanat practicar tots els controls anteriorment descrits.

5.5.5. Aportar dades no verificables

Les metodologies proposades permeten establir coneixements quantificables d'aquestes variables i especular sobre la qualitat del procés i la seva

transcendència en garantir l'encert diagnòstic establert en el dia a dia d'aquesta exploració en cada pacient.

5.6. Implicacions per a la investigació futura

Tal com s'ha reflectit en aquest treball una proposta ideal seria utilitzar la metodologia conjunta descrita en cada pacient per determinar totes les variables alhora, per detectar les possibles limitacions del procediment a cada pacient i verificar l'existència de relació entre les variables estudiades.

Tal com s'ha esmentat abans, verificar si en un mateix pacient existeix correlació entre els valors de les variables determinades i l'encert diagnòstic establert farien d'aquests controls una eina potent per garantir l'efectivitat clínica de l'exploració diagnòstica. Si més no, gràcies a aquesta tesi, es brinda la possibilitat de disposar d'una nova metodologia per realitzar-ho.

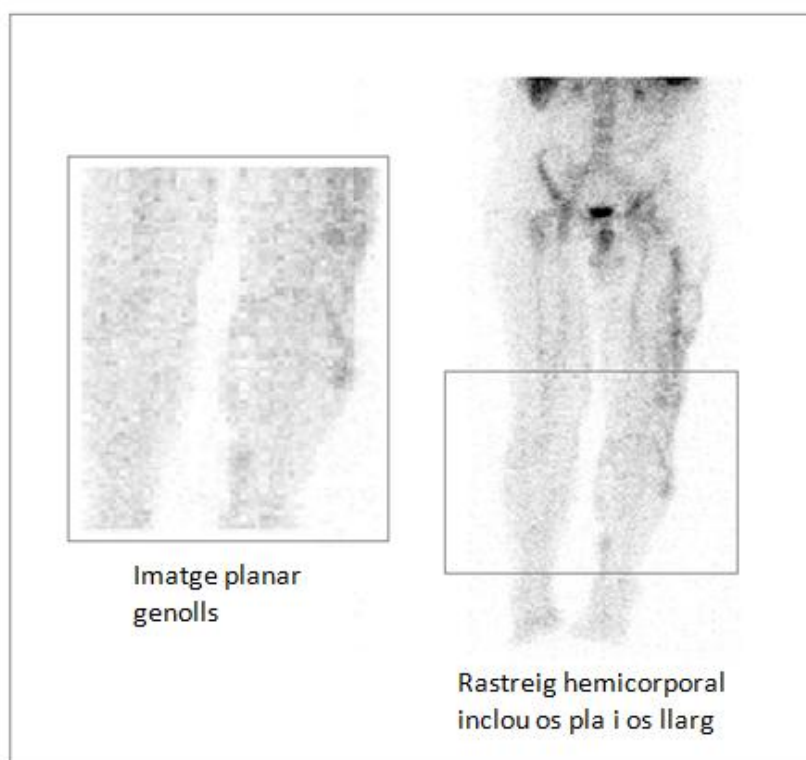
Encara més, es podria millorar l'estratègia proposada si s'incorporés una nova variant per evidenciar el funcionalisme dels components de la dosi administrada a través de l'obtenció en una mateixa imatge les àrees de captació fisiològica dels leucòcits marcats en ossos rics en medul·la òssia vermella i SFM (cresta ilíaca) en contrast amb els ossos amb carència (ossos llargs).

Un rastreig gammagràfic del mateix pacient que abasti els dos camps, permetria objectivar el funcionalisme dels leucòcits administrats.

Aquesta proposta pren la seva rellevància quan es tracta d'avaluar el funcionalisme dels leucòcits marcats administrats en la localització de patologia infecciosa a les extremitats, ja que habitualment la detecció planar en aquesta zona pot donar una imatge amb poca activitat al tractar-se d'ossos mancats de medul·la vermella i SFM, com s'ha senyalat abans.

Una solució a aquesta problemàtica es podria esmenar realitzant una nova detecció de cos sencer o si més no hemicorporal de manera que es tingués en una mateixa imatge els dos tipus d'ossos amb la finalitat d'avaluar el funcionalisme dels leucòcits marcats administrats (Figura 39).

Figura 39. Imatges anteriors i planars de l'abdomen i genolls del mateix pacient, contrastades amb una imatge hemicorporal del mateix pacient. La imatge pèlvica permet una millor valoració de les cèl·lules marcades.



5.6.1. Metodologia exportable a nous marcatges

La implantació d'aquesta nova metodologia podria ser també d'interès per avaluar marcatges de leucòcits amb nous radiofàrmacs precursors ¹³⁴ que poguessin sorgir en el futur de l'especialitat en la cerca d'una millor efectivitat de la prova, o bé, en la implantació citada abans del marcatge específic dels neutròfils sense els limfòcits del pacient. En tots dos casos amb la mateixa intenció de millorar la sensibilitat i especificitat de la seva utilització a l'estudi de les infeccions ¹³⁵.

6. CONCLUSIONS

Destacar que l'estratègia proposada, per avaluar la utilitat diagnòstica del leucòcits marcats amb ^{99m}Tc -HMPAO, possibilita ampliar detalls sobre múltiples variables que intervenen en el procés i que no havien estat avaluades anteriorment pels controls habituals. Amb els resultats obtinguts en aquest treball de recerca que conforma la tesi doctoral es poden establir les següents conclusions.

6.1. A l'objectiu principal

La nova estratègia proposada, consistent en l'anàlisi de la població cel·lular per citometria de flux, la distribució del marcatge per subpoblacions i la biodistribució in vivo de l'activitat administrada, ha permès verificar totes les variables objecte de l'estudi i conseqüentment fer una validació indirecta del procediment realitzat en la seva pràctica diària.

Analitzats els valors d'aquestes variables es detecta que la metodologia emprada té com a punts forts el manteniment de la viabilitat leucocitària, el marcatge dels leucòcits i la seva localització fisiològica dins del cos del pacient. Per contra els punts febles a destacar seria una contaminació variable hemàtica i de plaquetes inevitable, elucions del ^{99m}Tc , desviacions del procediment per canvis metodològics en reactius, separacions dels components i limitacions degudes a la detecció planar.

Comprovades aquestes variables a la mostra estudiada es van detectar lleugeres desviacions metodològiques que justificarien alguns errors diagnòstics en el casos falsos negatius. En canvi, els casos falsos positius obtinguts confirmarien les pròpies limitacions de l'exploració diagnòstica per diferenciar els estats inflamatoris dels infecciosos.

6.2. Als objectius secundaris

Dissenyades les metodologies proposades amb aquest fi cal destacar que la CFM ens ha permès determinar el nombre dels leucòcits marcats, les poblacions leucocitàries, la seva viabilitat, la contaminació cel·lular present a la dosi amb resultats de precisió acceptables i sense contravenir les normatives establertes en radioprotecció.

La distribució de la radioactivat entre els components de la dosi es va establir mitjançant la separació dels seus components per densitats. Aquesta metodologia ha estat limitada per estimar amb fiabilitat la proporcionalitat entre les hematies i els neutròfils. En canvi ha confirmat el marcatge dels limfòcits, mentre que les plaquetes ho fan en poca proporcionalitat.

La detecció de la dosi administrada als ossos rics en medul·la vermella i SFM, vasos i parts toves va permetre interpretar la localització dels seus components i el funcionalisme dels leucòcits marcats administrats.

Tots aquests controls es van practicar emprant els medis a l'abast del nostre centre i la seva determinació va representar una pèrdua màxima del 5% de la dosi.

Destacar també que tots els resultats són factibles d'estar a l'abast del facultatiu de Medicina Nuclear responsable de l'exploració abans de realitzar la interpretació diagnòstica de les imatges.

Finalment ressaltar que la seva aplicació a la pràctica diària aportaria una millor percepció de la qualitat del procediment realitzat en cada pacient i també podria ser aplicat per avaluar desviacions metodològiques en el transcurs del temps el que permetria verificar la robustesa del procediment realitzat.

Signat: Bernardo Soriano Borrás

7. BIBLIOGRAFIA

1. Madoff LC, Kasper D. Capítulo 120. Introducción de las enfermedades infecciosas: interacción entre huésped y parásito. En Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ (ed). Harrison. Principios de medicina Interna. Madrid: Mc.Graw-Hill, 1998. Vol I, p. 855-860.
2. Pidhorz L. Acute and chronic humeral shaft fractures in adults. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2015;101:41-9.
3. Palestro CJ, Love C, Miller TT. Diagnostic imaging tests and microbial infections. *Cell Microbiol.* 2007;9:2323-33. Review.
4. Erba PA, Glaudemans AW, Veltman NC, Sollini M, Pacilio M, Galli F, Dierckx RA, Signore A. Image acquisition and interpretation criteria for ^{99m}Tc-HMPAO-labelled white blood cell scintigraphy: results of a multicentre study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014;41:615-23.
5. Palestro CJ, Love C, Bhargava KK. Labeled leukocyte imaging: current status and future directions. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2009;53:105-23. Review.
6. Balcells A. Exámenes de sangre. Hematología Clínica. En Balcells A (ed). La clínica y el laboratorio. 19ª ed. Barcelona: Masson, 2003, p 149-21.
7. Bedair H, Ting N, Jacovides C, Saxena A, Moric M, Parvizi J, Della Valle CJ The Mark Coventry Award: diagnosis of early postoperative KA infection using synovial fluid analysis. *Clin Orthop Relat Res.* 2011;469:34-40.
8. Balcells A. Enfermedades infecciosas y parasitarias. En Balcells A (ed). La clínica y el laboratorio. 19ª ed. Barcelona: Masson, 2003, p. 621-677.
9. Woods GL. Manejo y recogida de muestras para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. En Henry JB ed. A Henry Laboratorio en el diagnóstico clínico. Philadelphia. Saunders Company 2010: 1254-1270.
10. Brossmann J, Sartois DJ, Resnick DJ. Infección en el hueso y en los tejidos blandos de localización extravertebral. En Resonancia Magnética 3ª ed. Stark DD, Bradley WG ed. Harcourt. Madrid 2000. vol II: 1037-1056.
11. Cronin CG, Gervais DA, Castillo CF, Mueller PR, Arellano RS. Interventional radiology in the management of abdominal collections after distal pancreatectomy: a retrospective review. *AJR Am J Roentgenol.* 2011;197:241-6.
12. Gazelle GS, Haaga JR, Stellato TA, Gauderer MW, Plecha DT Pelvic abscesses: CT-guided transrectal drainage. *Radiology.* 1991;181:49-51.
13. Gutierrez FR, Woodark. PK. El corazón: anatomía y técnicas de imagen. En Sanchez Alvarez-Pedrosa J, Casanova Gomez, R. (ed). Pedrosa Diagnóstico por la Imagen. Tratado de radiología Clínica. Madrid: Mc Graw-Hill, 1997, p.695-710.
14. McAfee JG, Subramanian G. Radioactive agents for imaging. In Freeman ed. Freeman and Johnson's Clinical Radionuclide imaging. Orlando. Grune & Stratton, Inc. 1984:55-180.

15. Frier M. Pharmacology, pharmacokinetics and metabolism of radiopharmaceuticals. In Sampson CB edit .Textbook of Radiopharmacy. Theory and Practice. Amsterdam: Gordon and Breach Science Publishers 1994, p. 209-214.
16. Kieffer DM, Vanbilloen HP, Cleynhens BJ, Terwinghe CY, Mortelmans L, Bormans GM, Verbruggen AM. Biological evaluation of a technetium-99m-labeled integrated tropane-BAT and its piperidine congener as potential dopamine transporter imaging agents. *Nucl Med Biol.* 2006;33:125-33.
17. Hadid L, Gardumi A, Desbrée A Evaluation of absorbed and effective doses to patients from radiopharmaceuticals using the ICRP 110 reference computational phantoms and ICRP 103 formulation. *Radiat Prot Dosimetry.* 2013;156:141-59.
18. Boerman OC, Dams ET, Oyen WJ, Corstens FH, Storm G. Radiopharmaceuticals for scintigraphic imaging of infection and inflammation. *Inflamm Res.* 2001;50:55-64. Review.
19. Palestro CJ. The current role of gallium imaging in infection. *Semin Nucl Med.* 1994;24:128-141.
20. Nijhof MW, Oyen WJ, van Kampen A, Claessens RA, van der Meer JW, Corstens FH Evaluation of infections of the locomotor system with indium-111-labeled human IgG scintigraphy. *J Nucl Med.* 1997;38:1300-1.
21. Persico MG, Lodola L, Buroni FE, Morandotti M, Pallavicini P, Aprile C. (99m)Tc-human serum albumin nanocolloids: particle sizing and radioactivity distribution. *J Labelled Comp Radiopharm.* 2015;58:376-82.
22. Becker W, Palestro CJ, Winship J, Feld T, Pinsky CM, Wolf F, Goldenberg DM. Rapid imaging of infections with a monoclonal antibody fragment (LeukoScan). *Clin Orthop Relat Res.* 1996;329:263-72.
23. Sakahara H, Reynolds JC, Carrasquillo JA, Lora ME, Maloney PJ, Lotze MT, Larson SM, Neumann RD. In vitro complex formation and biodistribution of mouse antitumor monoclonal antibody in cancer patients. *J Nucl Med.* 1989; 30:1311-7.
24. Andres RY, Schubiger PA, Tiefenauer L, Seybold K, Locher JT, Mach JP, Buchegger F Immunoscintigraphic localization of inflammatory lesions: concept, radiolabelling and in vitro testing of a granulocyte specific antibody. *Eur J Nucl Med.* 1988;13:582-6.
25. Kerry JE, Marshall C, Griffiths PA, James MW, Scott BB. Comparison between Tc-HMPAO labelled white cells and Tc LeukoScan in the investigation of inflammatory bowel disease. *Nucl Med Commun.* 2005 Mar;26(3):245-51.
26. Hall AV, Solanki KK, Vinjamuri S, Britton KE, Das SS Evaluation of the efficacy of 99mTc-Infecton, a novel agent for detecting sites of infection. *J Clin Pathol.* 1998;5:215-9.
27. Vaidyanathan S, Patel CN, Scarsbrook AF, Chowdhury FU. FDG PET/CT in infection and inflammation--current and emerging clinical applications. *Clin Radiol.* 2015 ;70:787-800.

28. Soriano B, Mendiarte L, San Martín E. Capítulo 1. Agentes de diagnóstico y radiofarmacia. En Bonal J, Domingues-Gil A, Gamundi MC (ed). Farmacia Hospitalaria 3^o edición. F.E.F.H. Madrid :SCM (Doyma), 2002, Tomo II, p.749-775.
29. McAfee JG, Thakur ML Survey of radioactive agents for in vitro labeling of phagocytic leukocytes. I. Soluble agents. *J Nucl Med.* 1976;17:480-7.
30. Roca M, Martín-Comín J, Becker W, Bernardo-Filho M, Gutfilen B, Moisan A, Peters M, Prats E, Rodrigues M, Sampson C, Signore A, Sinzinger H, Thakur M. A consensus protocol for white blood cells labelling with technetium-99m hexamethylpropylene amine oxime. International Society of Radiolabeled Blood Elements (ISORBE). *Eur J Nucl Med.* 199;25:797-9.
31. Danpure HJ, Osman S. Optimum conditions for radiolabelling human granulocytes and mixed leucocytes with ¹¹¹In-tropolonate. *Eur J Nucl Med.* 1988;13:537-42.
32. Segal AW, Arnot RN, Thakur ML, Lavender JP Indium-111-labelled leucocytes for localisation of abscesses. *Lancet.* 1976;13:1056-8.
33. Rini JN, Palestro CJ. Imaging of infection and inflammation with ¹⁸F-FDG-labeled leukocytes. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;50:143-6. Review.
34. Peters AM. The utility of [^{99m}Tc]HMPAO-leukocytes for imaging infection. *Semin Nucl Med.* 1994 ;24:110-27.
35. Smith, E. M. "Properties, uses, radiochemical purity and calibration of tc-99m" . *Journal of nuclear medicine* 1964;5: 871–82.
36. I.Zolle. Performance and quality control of the ⁹⁹Mo/^{99m}Tc generator. In Zolle I (ed). *Technetium-99m pharmaceuticals.* Berlin :Springer, 2007, p.77-94.
37. Dewanjee MK. The chemistry of ^{99m}Tc-labeled radiopharmaceuticals. *Semin Nucl Med.* 1990;20:5-27. Review.
38. Neirinckx RD, Burke JF, Harrison RC, Forster AM, Andersen AR, Lassen NA The retention mechanism of technetium-99m-HM-PAO: intracellular reaction with glutathione. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1988;8:4-12.
39. Peters AM, Danpure HJ, Osman S, Hawker RJ, Henderson BL, Hodgson HJ, Kelly JD, Neirinckx RD, Lavender JP. Clinical experience with ^{99m}Tc-hexamethylpropylene-amineoxime for labelling leukocytes and imaging inflammation. *Lancet.* 1986;25:946-9.
40. Peters AM. The utility of [^{99m}Tc]HMPAO-leukocytes for imaging infection. *Semin Nucl Med.* 1994 24:110-27.
41. Verdú Ricoa J, Juste Ruizb M, Jovera R, Muñoz Acosta J, Muñoz J, Martínez CaballeroA ,Antón Leala A, Caballero Carpena O. La gammagrafía con leucocitos marcados con ^{99m}Tc-HMPAO en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. *An Pediatr (Barc).* 2006;64:457-63.

42. Davison SM, Chapman S, Murphy MS. 99mTc-HMPAO leucocyte scintigraphy fails to detect Crohn's disease in the proximal gastrointestinal tract. *Arch Dis Child.* 2001;85:43-6.
43. Fiorani P, Speziale F, Rizzo L, De Santis F, Massimi GJ, Taurino M, Faraglia V, Fiorani L, Baiocchi P, Santini C, et al. Detection of aortic graft infection with leukocytes labeled with technetium 99m-hexametazime. *J Vasc Surg.* 1993;17:87-95.
44. Gaeta GB, Fusco FM, Nardiello S. Fever of unknown origin: a systematic review of the literature for 1995-2004. *Nucl Med Commun.* 2006;27:205-11.
45. Wolf G, Aigner RM, Schwarz T. Diagnosis of bone infection using 99m Tc-HMPAO labelled leukocytes. *Nucl Med Commun.* 2001;22:1201-6.
46. Subramanian G, McAfee JG, Blair RJ, Kallfelz FA, Thomas FD. Technetium-99m-methylene diphosphonate--a superior agent for skeletal imaging: comparison with other technetium complexes. *J Nucl Med.* 1975;16:744-55.
47. El-Maghraby TA, Moustafa HM, Pauwels EK. Nuclear medicine methods for evaluation of skeletal infection among other diagnostic modalities. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2006;50:167-92. Review.
48. Becker W, Meller J. The role of nuclear medicine in infection and inflammation. *Lancet Infect Dis.* 2001;1:326-33.
49. Fuster D, Duch J, Soriano A, García S, Setoain X, Bori G, Rubí S, Rodríguez D, Doménech B, Piera C, Mensa J, Pons F. Potential use of bone marrow scintigraphy in suspected prosthetic hip infection evaluated with 99mTc-HMPAO-leukocytes. *Rev Esp Med Nucl.* 2008;27:430-5.
50. Datz FL, Seabold JE, Brown ML, Forstrom LA, Greenspan BS, McAfee JG, Palestro CJ, Schauwecker DS, Royal HD. Procedure guideline for technetium-99m-HMPAO-labeled leukocyte scintigraphy for suspected infection/inflammation. Society of Nuclear Medicine. *J Nucl Med.* 1997;38:987-90.
51. Signore A, Glaudemans AW, Malviya G, Lazzeri E, Prandini N, Viglietti AL, De Vries EF, Dierckx RA. Development and testing of a new disposable sterile device for labelling white blood cells. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2012;56:400-8.
52. Knutson JE., et al., Does Intraoperative Hetastarch Administration Increase Blood Loss and Transfusion Requirements After Cardiac Surgery? *Anesthesia Analg.*, 2000;90:801-7.
53. Frier M. Leucocyte radiolabelling techniques: practical aspects. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1994;203:32-5. Review.
54. Piera C, Martínez A, Ramírez I. Radiochemical purity of technetium-99m-HMPAO depends on specific activity. *J Nucl Med.* 1995;36:706.

55. Sampson CB, Solanki C, Barber RW. ^{99m}Tc-exametazime-labelled leucocytes: effect of volume and concentration of exametazime on labeling efficiency, and clinical protocol for high efficiency multi-dose radiolabelling. *Nucl Med Commun.* 1991;12:719-23.
56. Thakur ML, Seifert CL, Madsen MT, McKenney SM, Desai AG, Park CH. Neutrophil labeling: problems and pitfalls. *Semin Nucl Med.* 1984;14:107-17. Review.
57. English D, Clanton JA. Evaluation of neutrophil labeling techniques using the chemotaxis radioassay. *J Nucl Med.* 1984;25:913-6.
58. Mortelmans L, Malbrain S, Stuyck J, De Backker C, Heynen MJ, Boogaerts M, De Roo M, Verbruggen A. In vitro and in vivo evaluation of granulocyte labeling with [^{99m}Tc]d,1-HM-PAO. *J Nucl Med.* 1989 ;30:2022-8.
59. Love C, Opoku-Agyemang P, Tomas MB, Pugliese PV, Bhargava KK, Palestro CJ. Pulmonary activity on labeled leukocyte images: physiologic, pathologic, and imaging correlation. *Radiographics.* 2002 ;22:1385-93.
60. Djekidel M, Brown RK, Piert M. Benefits of hybrid SPECT/CT for (111)In-oxine- and Tc-^{99m}-hexamethylpropylene amine oxime-labeled leukocyte imaging. *Clin Nucl Med.* 2011;36:50-6.
61. Müller C, Schibli R. Single photon emission computed tomography tracer. *Recent Results Cancer Res.* 2013;187:65-105.
62. Palestro CJ, Love C, Tronco GG, Tomas MB, Rini JN. Combined labeled leukocyte and technetium ^{99m} sulfur colloid bone marrow imaging for diagnosing musculoskeletal infection. *Radiographics.* 2006 ;26:859-70. Review.
63. Termaat MF, Raijmakers PG, Scholten HJ, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ. The accuracy of diagnostic imaging for the assessment of chronic osteomyelitis: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:2467-71.
64. Sampson CB. Interference of patient medication in the radiolabelling of white blood cells: an update. *Nucl Med Commun.* 1998;19:529-33.
65. Espanya. Ley 25/1990, de 20 de diciembre, del Medicamento. Sábado 22 diciembre 1990 BOE núm. 306: 38228- 38246. Sección sexta.
66. AEMPS. Medicamentos de uso humano. Farmacopea. marcaje de leucocitos con tecnecio (^{99m}Tc) con exametazima (HM-PAO). Disponible a : <http://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/farmacopea/informacionRFE/guia1.htm>.
67. Espanya. Real Decreto 479/1993, de 2 de abril, por el que se regulan los medicamentos radiofármacos de uso humano. BOE num 109 7 de mayo de 1993 : 13687-12693.
68. J.Mallol. Principales normas legales que regulan los medicamentos radiofarmaceuticos y las sustancias radiactivas. En J.Mallol (ed). Manual de Radiofarmacia.. Madrid: Diaz de Santos ,2008, p.

69. EANM Radiopharmacy Committee (2007) guidelines on current good radiopharmacy practice (CGRPP) in the preparation of radiopharmaceuticals. Disponible a: http://www.eanm.org/scientific_info/guidelines/gl_radioph_cgrpp.pdf.
70. Sampson CB. Stress and pressure in the radiopharmacy: a cause for concern. *Nucl Med Commun.* 1996;17:831-3.
71. Caride VJ. *Manual de procedimientos de Medicina Nuclear.* Caride (ed). Barcelona:Salvat p.204 ISBN 9788434528215.
72. Gulati G, Song J, Dulau-Florea A, Gong J. Purpose and criteria for blood scan, blood smear examination and blood smear review. *Ann Lab Med* 2013;33:1-7.
73. Davis BH, Wood B, Oldaker T, Barnett D. Validation of Cell-based Fluorescence Assays: Practice Guidelines from the ICSH and ICCS– Part I – Rationale and Aims. *Cytometry B Clin Cytom* 2013;84:282–5.
74. Tanqri S, Vall H, Kaplan D, Hoffman B, Purvis N, Porwit A, et al. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from ICSH and ICCS-part III-analytical issues. *Citometry B Clinical Cytom* 2013;84:291-308.
75. Palacajornsuk P. Review: molecular basis of MNS blood group variants. *Immunohematology* 2006;22:171-182.
76. Reid ME. MNS blood group system: A review. *Immunohematology* 2009; 25:95-10.
77. Sackett DL. A primer on the precision and accuracy of the clinical examination. *JAMA* 1992;267:2638-2644.
78. Bartko JJ. The intraclass correlation coefficient as a measure of reliability. *Psychol Rep* 1966;19:3-11.
79. Sampson CB. Complications and difficulties in radiolabelling blood cells: Smith SV. Cell labeling:tracking, viability and function. *QJ Nucl Med Mol Imag* 2005;49:301-3.
80. Subramanian G, Mc Afee JG. Chapter 11. Radioisotope generators. in Tubis M, Wolf W (ed). *Radiopharmacy.* New York :Wiley-Interscience. John Wiley Sons, 1976, p 255-277.
81. Danpure HJ, Osman S, Carroll MJ. The development of a clinical protocol for the radiolabelling of mixed leucocytes with ⁹⁹Tcm-hexamethylpropyleneamine oxime. *Nucl Med Commun.* 1988;9:465-75.
82. Kung CT, Su CM, Chang HW, Cheng HH, Hsiao SY, Tsai TC, et al. The prognostic value of leukocyte apoptosis in patients with severe sepsis at the emergency department. *Clin Chim Acta* 2015;438:364-9.
83. Dahlke MH, Larsen SR, Rasko JE, Schlitt HJ. The biology of CD45 and its use as a therapeutic target. *Leuk Lymphoma* 2004;45:229.
84. European Working Group on Clinical Analysis (EWGCCA). Cytofluorometric methods for assessing absolute number of cell subtypes in blood. *Cytometry A* 2000;42:327-46.

85. Kessimian N. Laboratory medicine and diagnostic testing. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2004;94:194-7.
86. Urbano N, Modoni S, Schillaci O Media Fill Test for validation of autologous leukocytes separation and labelling by (99m)Tc-HmPAO. *Nucl Med Biol.* 2013;40:104-8.
87. Karesh SM, Henkin RE. Preparation of ¹¹¹In leukocytes after hemolytic removal of erythrocytes. *Int J Rad Appl Instrum B.* 1987;14:79–80.
88. Ballinger JR, Reid RH, Gulenchyn KY Technetium-99m HM-PAO stereoisomers: differences in interaction with glutathione. *J Nucl Med.* 1988 ;29:1998-2000.
89. Ballinger JR, Reid RH, Gulenchyn KY Radiochemical purity of [99mTc]HM-PAO. *J Nucl Med.* 1988;29:572-3.
90. Frier.M. Mechanisms of localisation of radiopharmaceuticals. En Sampson CB (ed). *Textbook of radiopharmacy. Theory and Practice.* Amsterdam:Gordon and breach science publishers, 1994, p. 201-208.
91. Erba PA, Sollini M, Conti U, Bandera F, Tascini C, De Tommasi SM, Zucchelli G, Doria R, Menichetti F, Bongiorno MG, Lazzeri E, Mariani G Radiolabeled WBC scintigraphy in the diagnostic workup of patients with suspected device-related infections. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2013;6:1075-86.
92. Pelosi E, Baiocco C, Pennone M, Migliaretti G, Varetto T, Maiello A, Bellò M, Bisi G. 99mTc-HMPAO-leukocyte scintigraphy in patients with symptomatic total hip or knee arthroplasty: improved diagnostic accuracy by means of semiquantitative evaluation. *J Nucl Med.* 2004;45:438-44.
93. Aburano T, Yokoyama K, Shuke N et al. Tc-99m HMPAO-labeled leukocytes for hematopoietic marrow imaging. Comparison with In-111 chloride. *Clin Nucl Med* 1992;17:938-944.
94. O'Mara RE, Weber DA. Chapter 14. The osseous system. In Freeman LM (ed). *Freeman LM and Johnson's Clinical Radionuclide Imaging.* Orlando :Grune &Straton, inc,1984,Volume II, p. 141-1239.
95. Hughes DK. Nuclear medicine and infection detection: the relative effectiveness of imaging with ¹¹¹In-oxine-, ^{99m}Tc-HMPAO-, and ^{99m}Tc-stannous fluoride colloid-labeled leukocytes and with ⁶⁷Ga-citrate. *J Nucl Med Technol.* 2003 ;3:196-201.
96. International Committe of Harmonization (ICH). official web site: <http://www.ich.org/products/guidelines/multidisciplinary/article/multidisciplinary-guidelines.html>.
97. European Association Nuclear Medecine (EANM). Official web site: <http://www.eanm.org/>.
98. de Vries FJ, Roca M, Jamar F, Israel O, Signore A. Guidelines for the labelling of leucocytes with ^{99m}Tc-HMPAO. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2010) 37:842–848.

99. Palestro Cj, Love C. Capitulo 34. Diagnòstico de infecciones osteoarticulares: en Medicina Nuclear en la practica clínica. Soriano A, Martin-Comin J, Garcia A M^a. Aula medica. 2009. Madrid: 443-473.
100. Palestro CJ, Love C, Bhargava KK. Labeled leukocyte imaging: Current status and future directions. *QJ Nucl Med Mol Imaging* 2009;53:105-123.
101. Sampson CB. Complications and difficulties in radiolabelling blood cells: a review. *Nucl Med Commun*. 1996;17:648-58.
102. Sampson CB. Interference of patient medication in the radiolabelling of white blood cells: an update. *Nucl Med Commun*. 1998 Jun;19(6):529-33.
103. Piera C, Vázquez A, Hernández MA, Plancha MC, Ruiz A, Mateos JJ, Martín F, Ortega ML, Fuertes S, Pons F. [Fast method of labelling leukocytes with 99mTc HM PAO]. *Rev Esp Med Nucl*. 2002;21:343-8.
104. Hamzeh-Cognasse H, Damien P, Chabert A, Pozzetto B, Cognasse F, Garraud O. Platelets and infections - complex interactions with bacteria. *Front Immunol*. 2015 Feb 26;6:82.
105. Lugli E, Roederer M, Cossarizza A. Data analysis in flow cytometry: the future just started. *Cytometry A* 2010;77:705-13.
106. Frier M Leucocyte radiolabelling techniques: practical aspects. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1994;203:32-5. Review.
107. Ballinger JR, Gnanasegaran G. Radiolabelled leukocytes for imaging inflammation: how radiochemistry affects clinical use. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2005;49:308-18.
108. Barrabés JA, Garcia-Dorado D, Mirabet M, Inserte J, Agulló L, Soriano B, Massaguer A, Padilla F, Lidón RM, Soler-Soler. Antagonism of selectin function attenuates microvascular platelet deposition and platelet-mediated myocardial injury after transient ischemia. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:293-9.
109. Hammersley PA, Nkhohkwo AT. Studies on white blood cell labeling: (99)Tc(m)-HMPAO preferentially labels granulocytes. *Nucl Med Commun* 2001;22:981-6.
110. Thierens HMA, Vral AM, Van Haelst JP, et al. Lymphocyte labeling with technetium-99m-HMPAO: a radiotoxicity study using the micronucleus assay. *J Nucl Med* 1992;33:1167-74.
111. Roca M, Iglesias F. Radiofarmacos tecneciados. En Soriano A, Martin-Comin J, Garcia A. M^a(ed). *Conceptos básicos en Medicina Nuclear en la práctica clínica*. Madrid: Aulamedica 2009, p 59-85.
112. Tornos MP, Martínez-Useros C, Permanyer G, Candell Riera J, Aguadé S, Domènech FM, Soler Soler JS. Usefulness of isotopic ventriculography in the treatment of patients with aortic valve disease. *Rev Esp Cardiol*. 1988;41:77.

113. Bennett JD, Dubeau RA, Driedger AA, et al. Polymorphonuclear leukocytes labeled with technetium-99m HMPAO. A potential bone marrow imaging agent. *Clin Nucl Med* 1988;13:44-45.
114. Fernandez P, Monet A, Matei C, et al. 99mTc-HMPAO labeled white blood cell scintigraphy in patients with osteoarticular infection: the value of late images for diagnostic accuracy and interobserver reproducibility. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:1239-44.
115. Espanya. Real Decreto 1841/1997, de 5 de diciembre, por el que se establecen los criterios de calidad en medicina nuclear. BOE 303 del 19 de diciembre 1997: 37137-37143.
116. Erba PA, Glaudemans A, Veltman NC, et al. Image acquisition and interpretation criteria for 99mTc-HMPAO-labelled white blood cell scintigraphy: results a multicentre study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2014;41:615-23.
117. Ouyang Z, Li H, Liu X, Zhai Z, Li X. Prosthesis infection: diagnosis after total joint arthroplasty with three-phase bone scintigraphy. *Ann Nucl Med*. 2014;28:994-1003.
118. Gemmel F, Van den Wyngaert H, Love C, Welling MM, Gemmel P, Palestro CJ. Prosthetic joint infections: radionuclide state-of-the-art imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012 May;39(5):892-909.
119. Roca M, Iglesias F, Garcia V, et al. Chemotaxis, viability, and labeling stability of leukocytes labeled with 99mTc-exametazime stabilized with methylene blue. *J Nucl Med* 2001;42:505-8.
120. Seabold JE, Nepola JV. Imaging techniques for evaluation of postoperative orthopedic infections. *Q J Nucl Med*. 1999;43:21-8.
121. Fuster D, Duch J, Soriano A, García S, Setoain X, Borí G, Rubí S, Rodríguez D, Doménech B, Piera C, Mensa J, Pons F. Potential use of bone marrow scintigraphy in suspected prosthetic hip infection evaluated with 99mTc-HMPAO-leukocytes. *Rev Esp Med Nucl* 2008;27:430-5.
122. Granados U, Fuster D, Soriano A, Garcia s;S, Borí G, Martínez JC, Mayoral M, Perlaza P, Tomas X, Pons F. Cribado mediante angiogramagrafia previo a la realización de gammagrafia con leucocitos marcados ^{99m}Tc-HMPAO en el diagnostic de infección de protesis articulares. *Rev Esp Med Nucl Imagen Mol* 2015;34:219-24.
123. Alonso Farto JC, Almoguera MI, Hernandez R, Orcajo J, Perez Vazquez JM. 99mTc-HMPAO-labelled leukocytes in osteoarticular infection: clinical cases and diagnostic problems. *Rev Esp Med Nucl* 2008;27:217-33. Review.
124. McAfee JG, Subramanian G, Cagne G. Technique of leukocyte harvesting and labelling: problems and perspectives. *Semin Nucl Med* 1984; 14:83-106
125. Tande AJ, Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:302-45
126. Chattopadhyay PK, Roederer M. Cytometry: today's technology and tomorrow's horizons. *Methods*. 2012; 57:251-8.

127. Espanya. Real Decreto 1836/1999, de 3 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento sobre instalaciones nucleares y radiactivas. BOEnum 313 31 de diciembre 1999: 46463-46482.
128. Nunes LA, Brenzikof R, de Macedo DV. Reference change values of blood analytes from physically active subjects. *Eur J Appl Physiol.* 2010; 110:191-8.
129. Gratama JW, D'hautcourt JL, Mandy F, Rothe G, Barnett D, Janossy G, et al. Flow cytometric quantitation of immunofluorescence intensity: problems and perspectives. *European Working Group on Clinical Cell Analysis. Cytometry.* 1998;33:166-178.
130. J.Mallol. capitulo 3.4. Radiofarmacia. En Bonal J, Domingues-Gil A(ed). *Farmacia Hospitalaria 2ª edicion.* Madrid: EMISA, 1992, p. 544-556.
131. Love C, Marwin SE, Palestro CJ. Nuclear medicine and the infected joint replacement. *Semin Nucl Med.* 2009;39:66-78.
132. Vallabhajosula S. *Molecular Imaging. Radiopharmaceuticals for PET and SPECT.* Springer. London.2009. ISBN 978-3-540-76734-3.
133. O'Connor MK, Hung JC. Chapter I. Instrumentation Quality Control. Procedure I-5. Dose calibrator Quality Control. In O'Connor MK (ed). *The Mayo clinic manual of Nuclear medicine.* New York: Churchill Livingstone, 1996, p.45-54.
134. Dumarey N, Egrise D, Blocklet D, Stallenberg B, Rimmelink M, del Marmol V, Van Simaey G, Jacobs F, Goldman S. Imaging infection with 18F-FDG-labeled leukocyte PET/CT: initial experience in 21 patients. *J Nucl Med.* 2006;47:625-32.
135. Signore A, Mather SJ, Piaggio G, Malviya G, Dierckx RA. Molecular imaging of inflammation/infection: nuclear medicine and optical imaging agents and methods. *Chem Rev.* 2010;110:3112-45.

8. ANNEX: APORTACIONS A CONGRESSOS

2010

Soriano B, Torrent E, Palacio C, Castell J, Modamio P, Mariño EL. A new method for the quality control of the labelled leukocytes with Tc99mHMPAO.

7th International Symposium on technetium in Chemistry and Nuclear Medicine. Bressanone, **Italy**. 6-9 September **2006**.

Publicació: llibre symposium

Soriano B, López B, Palacio C, Pla G, Quera M, Gallur L, Castell J, Modamio P, Mariño EL. Multiparametric flow cytometry as a final quality control of labelled leukocytes with Tc99m-HMPAO: repeatability test.

15th Symposium Radiopharmacy and Radiopharmaceuticals. EANM (European Association Nuclear Medicine). Edimburg. 8-11 April **2010**.

Soriano B, López B, Palacio C, Pla G, Quera M, Gallur L, Castell J, Modamio P, Mariño EL. Validación de la Citometría de Flujo Multiparamétrica como método de control de calidad final de los leucocitos marcados con Tc99-HMPAO.

XXX Congreso Español de Medicina Nuclear. SEMNIM (Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular). La Coruña. 16-18 junio **2010**.

Publicació: Revista Española de Medicina Nuclear. 2010;30(suppl 1):77-78

2012

Soriano Borrás B, Boronat de Ferrater M, Porta Biosca F, Lima Oubiña A , López Lorenzo B , Modamio P, Mariño E, Castell J. Utilidad de la imagen gammagráfica como control de calidad del funcionalismo in vivo de los leucocitos marcados con 99mTc-HMPAO

XXXII Congreso Español de Medicina Nuclear. SEMNIM (Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular). Cádiz, 12-15 Junio **2012**.

Publicació: Revista Española de Medicina Nuclear. 2012;31(suppl 1):72-73

Soriano B, Lima A, Modamio P, Quera M, Moga M, Romero-Farina G, Lastra CF, Mariño EL. Radiopharmaceutical quality assurance of the Tc99mHMPAO labeled leukocytes in the diagnosis and control of infectious and inflammatory disorders

41st ESCP Symposium on Clinical Pharmacy. Barcelona, **Spain**. 29-31 October 2012

Publicació: International Journal of Clinical Pharmacy, 2013;35(5): 991

2013

Lima A, Moga M, Quera M, Hernández MA, Soriano B. Verificación de la utilidad diagnóstica de los leucocitos marcados con Tc99mHMPAO en patología infecciosa de huesos planos y en los largos.

XXXIII Congreso Español de Medicina Nuclear. SEMNIM (Sociedad Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular). Murcia 5-7 junio **2013**.

Publicació: Revista Española de Medicina Nuclear. 2013; 32(suppl 1):120.

