

110. Utilidad del dimetilsulfóxido (DMS) para la criopreservación de muestras de líquido sinovial

Fernando Perez Ruiz*,**, Elsa López Bardón** , Javier Aróstegui*, Javier DuruelTo*, Joana Atxotegi*, Elena Garmendia*, Maria del Consuelo Modesto*, Nathali Rivas*, Juan Jose Mateos Mazón**
Servicio de Reumatología*, Facultad de Medicina (Trabajo Fin de Grado)**, Servicio de Hematología ***, Hospital Universitario Cruces

1.- Antecedentes: la congelación de muestras celulares (liquido sinovial) pueden verse afectadas por la citólisis derivada de la formación de cristales de hielo intracelular. El DMS se emplea como criopreservante en el trasplante de células hemopoyéticas.

3.- Método: estudio transversal de muestras consecutivas de líquido sinovial excedente de artrocentesis, se evaluó en < 20 min la alícuota de referencia por un senior con validación EULAR/ACR; otras dos alícuotas aleatorizaron, cegaron y congelaron para su examen tras 3 meses, una de ellas con DMS 10% (DMS+) y otra sin DMS (DMS-). Las variables estudiadas: recuento total de leucocitos, presencia/ausencia de cristales, identificación urato (UMS) o pirofosfato (PFCa), numero de campos hasta encontrar primer cristal y número de cristales observados por campo. La vitalidad de todas las alícuotas se evaluó mediante tinción supravital de azul tripano. Se analizaron muestras pareadas, concordancia y correlaciones intraclase (intra e interobservador) mediante paquete SPSS-V23. Todas las muestras se observaron secuencialmente con luz simple, luz polarizada con compensador rojo de primer orden y finalmente con contraste de fases.

2.- Objetivo: estudiar si la adición de dimetilsulfóxido es útil para mantener las propiedades de líquido sinovial en cuanto a recuento leucocitario, detección e identificación de cristales de líquido sinovial.

4.- Resultados: 30 muestras de líquido sinovial. Muestras con cristales 18/30 (8 UMS, 10 PFC). El recuento celular medio fue de 13100 leucocitos/mcL. La celularidad media fue un 22% menor (de 13140 a 10200) tras la descongelación en muestras DMS+, frente al 58% menor en las DMS- (de 13100 a 5500). La concordancia para detección e identificación de cristales fue excelente en muestras DMS+ (ambas kappa > 1.0), observándose en cambio 4 falsos negativos para la detección de cristales de pirofosfato y 1 de urato, con una pérdida de fiabilidad del 39 y 31% (kappa de 1,00 a 0,61 y 0,63 respectivamente). Es reseñable que los 4/5 falsos negativos procedían de líquidos con fácil detección (1-3 campos) y abundantes cristales (>10 por campo), pero con alta pérdida celular (mediana delta -15000 cels/mcL). Todas las muestras referencia mostraron vitalidad > 50%, mientras que se redujo al 76% en muestras DMSO y al 0% en las muestras DMSO-.

Concordancia en recuento celular

Leucocitos	Media	N	Desviación estándar
Referencia	13140	30	10674
DMSO+ Observador 1	10200*	30	7747
Referencia	14748	23	11378
DMSO+ Observador 2	6735*	23	4100
Referencia	13140	30	10674
DMSO- Observador 1	5503**	30	6105
Referencia	1878	23	11278
DMSO- Observador 2	3195**	23	2696

	DMSO+	DMSO-
Observador 1	0,91 (0,81-0,96)	0,79 (0,56-0,90)
Observador 2	0,43 (-0,35-0,76)	0,28 (-0,69-0,70)

Concordancia en detección e identificación de cristales

DMSO+					DMSO-				
Observador 1		Observador 2			Observador 1		Observador 2		
	Cristales-	Cristales+	Cristales-	Cristales+	Cristales-	Cristales+	Cristales-	Cristales+	
Cristales-	12	0	2	2	11	1	3	2	
Cristales+	0	18	0	18	5	13	7	10	
Índice Kappa observador 1: 1,00					Índice Kappa observador 1: 0,61				
Índice Kappa observador 2: 0,62					Índice Kappa observador 2: 0,14				

DMSO+				DMSO-			
Observador 1				Observador 1			
	NO	UMS	PFCa	NO	UMS	PFCa	
NO	12	0	0	11	0	1	
UMS	0	8	0	1	7	0	
PFCa	0	0	10	4	0	6	
Índice Kappa observador 1: 1				Índice Kappa observador 1: 0,69			

Numero de campos y densidad de cristales por campo

DMSO+				DMSO-		
		UMS	PFCa	NO	UMS	PFCa
Campos 1-3	UMS	8	0	1	7	0
	PFCa	0	9	3	0	6
Campos 7-9	PFCa	0	1	1	0	0
Índice Kappa: 1,00				Índice Kappa: 0,62		

DMSO+				DMSO-		
Cristales/campo	UMS	PFCa		NO	UMS	PFCa
1-5	UMS	2	0	0	2	0
	PFCa	0	2	2	0	0
5-10	UMS	1	0	0	1	0
	UMS	5	0	1	4	0
>10	PFCa	0	8	2	0	6
Índice Kappa: 1,00				Índice Kappa: 0,33		

Conclusiones: la adición de DMS al 10% al liquido sinovial permite criopreservar adecuadamente las muestras para su almacenaje y posterior observación, manteniéndose la concordancia en la detección y la identificación de cristales. La pérdida de celularidad y vitalidad con formación de detritos celulares en muestras sin criopreservante pueden favorecer la reducción de la fiabilidad en la detección de cristales, especialmente de PFC.

Nota: este poster ha recibido una valoración positiva preliminar para su publicación Open Access en revista indexada con impacto en Q2.

