

# 15<sup>o</sup> CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

## MEMORIAS

### SESIONES DEL DOMINGO

#### Diagnóstico hematológico

[Estandarización para la valoración morfológica del FSP propuesta por el ICSH.](#)

*María Clemencia Garnica Barrios*

[Identificación y monitoreo de la deficiencia funcional de hierro utilizando el parámetro Re-He.](#)

*Elsa Eleonora Sánchez*

[Platelet function testing from a to VWF.](#)

*David Pearman*

[Quality control in coagulation.](#)

*Piet Meijer*

[Utilidad clínica y limitaciones de la prueba de Coombs.](#)

*Armando Daniel Cortés Buelvas*

#### Micología a la vanguardia

[Susceptibilidad in vitro de \*Candida spp\* a Azoles, Anfotericina B y Candinas según estándares EUCAST Y CLSI.](#)

*Carmen Ana Vides Peña*

#### Oncología y biomarcadores tumorales, analitos de importancia en el manejo clínico

[Marcadores tumorales.](#)

*Haroldo Estrada López*

#### Desafíos actuales en microbiología

[Presepsina una oportunidad frente a la sepsis.](#)

*Ricardo Gómez Rodríguez*

[Neumonía nosocomial y neumonía asociada a ventilador.](#)

*Carmelo Dueñas Castell*

[Helicobacter pylori: aspectos microbiológicos, epidemiológicos y moleculares.](#)

*Mayra Raciny Alemán*

[Anaerobios retos y realidades en el laboratorio en microbiología clínica.](#)

*Fabio A. Restrepo Restrepo*

[Control microbiológico ambiental \(validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales\).](#)

*Harold Durango Galván*

[Pseudomonas aeruginosa, evidencia de evolución bacteriana versus diagnóstico molecular.](#)

*Doris Gómez Camargo*

### **El laboratorio, una visión de empresa productiva**

[Ideas para una buena gestión en la fase pre-analítica.](#)

*Carlos Daniel Navarro*

[Responsabilidad ética de los principales actores del mercado laboral del bacteriólogo en Colombia.](#)

*Aida Porras Caicedo*

### **Zoonosis, patógenos en potencia**

[Retos para el diagnóstico etiológico de zoonosis emergentes y reemergentes.](#)

*Lina Gutiérrez Builes*

[Patógenos emergentes: Anaplasma spp, Babesia spp y Erlichia spp. Una amenaza real.](#)

*Bárbara Arroyo Salgado*

[La crisis convulsiva de aparición tardía asociada a neurocisticercosis.](#)

*Julio Cesar Giraldo Forero*

## CONFERENCIAS

### DIAGNÓSTICO HEMATOLÓGICO

#### ESTANDARIZACIÓN PARA LA VALORACIÓN MORFOLÓGICA DEL FSP PROPUESTA POR EL ICSH

María Clemencia Garnica Barrios  
Bacterióloga, Especialista en Hematología

Los laboratorios del mundo tienen diferentes sistemas para la valoración (clasificación e información) de las anomalías morfológicas de las células hematopoyéticas en el frotis de sangre periférica. La valoración morfológica está ligada a cierto grado de subjetividad; como por ejemplo la variabilidad en la interpretación morfológica y la presentación de informes entre los laboratorios y observadores que pueden causar resultados contradictorios, inconsistentes o inexactos. Las variaciones en el reporte están influenciadas por recomendaciones de la literatura, publicaciones locales, regionales, sociedades nacionales e internacionales o criterios personales.

La evaluación microscópica de los aspectos morfológicos, tanto cuantitativa como cualitativa, sigue siendo una herramienta importante en el proceso integrado del diagnóstico de las patologías en general y de las hemopatías en particular. No hay evidencia que cualquiera de los sistemas existentes sea mejor que el otro. Sin embargo debe mantenerse la coherencia dentro del sistema elegido debido a que es una buena práctica de laboratorio y está recomendado por las instituciones de acreditación.

Los rasgos morfológicos no deben ser considerados como características distintivas de una enfermedad. Estos representan los cambios provocados por factores intrínsecos o extrínsecos involucrados en la patogénesis de una enfermedad, el grado y velocidad de los cambios morfológicos aparecen en porcentajes variables, dependiendo de la patología, la gravedad, la intensidad y la duración.

El objetivo del ICSH (Consejo Internacional para la Estandarización en Hematología) es facilitar una guía para la clasificación y el reporte de las anomalías morfológicas de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. Lo anterior con el propósito de mejorar la calidad del diagnóstico basado en citomorfología; el cual se logra mediante la asociación del laboratorio (interpretación del hemograma,

gráficos, alarmas, mensajes y datos numéricos, valoración del FSP) con la correlación clínica y la edad del paciente.

Recomendaciones importantes para el laboratorio:

- Armonizar el reporte de los rasgos morfológicos del FSP.
- Establecer un sistema de nomenclatura.
- Desarrollar un sistema de clasificación de la anormalidad.
- Fomentar el uso de los parámetros del analizador para generar un mayor nivel de exactitud y precisión.
- Establecer políticas para la revisión del FSP (resultados del hemograma).

Cabe recordar, que no son propósitos de la guía proporcionar recomendaciones para la preparación estandarizada del frotis de sangre, ni proporcionar criterios de diagnóstico para la clasificación y el diagnóstico de neoplasias hematológicas u otros estados de enfermedad.

Factores técnicos que afectan la valoración del FSP:

- Muestra.
- Extensión.
- Coloración.
- Selección del campo microscópico.
- Número de campos observados.
- Definición del número de células observadas.
- Habilidad, conocimiento y experiencia del morfológico.
- Nomenclatura utilizada.

Criterios de evaluación y calificación de las características morfológicas:

- La clasificación de los elementos celulares deberá proporcionar al clínico información útil sobre el estado de cualquier anomalía en la sangre periférica.
- Es responsabilidad del laboratorio proveer información que aporte al diagnóstico diferencial en lugar de proporcionar datos que no son clínicamente significativos.
- De acuerdo con la distribución Rümke, un mínimo de 1.000 glóbulos rojos deben ser evaluados para aportar mayor precisión al porcentaje de células que tienen una anormalidad morfológica particular.

La tabla de clasificación morfológica incluye un sistema de dos niveles de calificación: 2+ moderada y 3+ marcada. Sin embargo hay otra calificación, 1+ (escasos), que está reservada para esquistocitos. Un recuento de esquistocitos puede ser de valor clínico para el diagnóstico y seguimiento de las microangiopatías (CID-SHU-PTT-S.HELLP).

Algunas alteraciones morfológicas son muy específicas y clínicamente significativas; incluso cuando se muestran en pequeñas cantidades. Otras son ambiguas y de poca importancia diagnóstica. Además pueden aparecer como artefactos de la preparación y otras no necesitan ser cuantificados y deben ser reportados simplemente como "presentes".

### Variaciones cualitativas línea eritroide

Sistema de registro de hallazgos morfológicos línea eritroide			
Nomenclatura	Ligera 1+	Moderado 2+, %	Marcado 3+, %
Anisocitosis	N/A	11 – 20	> 20
Microcitos	N/A	11 – 20	> 20
Macroцитos	N/A	11 – 20	> 20
Ovalocitos Macro	N/A	2 - 5	> 5
Hipocromía	N/A	11 – 20	> 20
Policromatofilia	N/A	5 – 20	> 20
Acantocitos	N/A	5 – 20	> 20
Queratocitos	N/A	1 – 2	> 2
Dianocitos	N/A	5 – 20	> 20
Drepanocitos	N/A	1 – 2	> 2
Eliptocitos	N/A	5 – 20	> 20
Equinocitos	N/A	5 – 20	> 20
Esferocitos	N/A	5 – 20	> 20
Esquistocitos	< 1%	1 – 2	> 2
Estomatocitos	N/A	5 – 20	> 20
Excentrocitos	< 1%	1 – 2	> 2
Dacriocito	N/A	5 – 20	> 20
Ovalocitos	N/A	5 – 20	> 20
Punteado basófilo	N/A	5 – 20	> 20
Cuerpos de Howell-Jolly	N/A	2 – 3	> 3
Cuerpos de Pappenheimer	N/A	2 – 3	> 3

En frotis de individuos normales se puede encontrar menos del 10% de glóbulos rojos con alguna alteración morfológica que no tiene significado clínico. De la misma manera, las células rojas en los recién nacidos son fisiológicamente más grandes y

pueden mostrar glóbulos rojos fragmentados 1%, algunos policromasia, esferocitos, dacriocitos, acantocitos, dianocitos y cuerpos de Howell-Jolly para los cuales no aplica ser reportados.

Las recomendaciones generales del grupo de consenso ICSH son:

1. Informar su presencia cuando se observa (hematíes aglutinados, rouleaux - cristales de hemoglobina – estructuras bacterianas, hongos, protozoos o parásitos).
2. Hacer uso del término poiquilocitosis.
3. Reportar la forma específica de los hematíes.
4. Los normoblastos en valor absoluto y normoblastos/100 leucocitos observados.
5. El grado de policromatofilia se debe correlacionar con el conteo de reticulocitos.
6. Los términos Eliptocitos / ovalocytes son intercambiables.
7. Definir los macrocitos y microcitos teniendo en cuenta el parámetro VCM (volumen corpuscular medio).
8. En situaciones fisiológicas los hematíes son más grandes (muestras de bebés), no reportar macrocitosis, interferentes que afecta el VCM (presencia de reticulocitos y algunas formas particulares de hematíes).

Evaluación de hipocromía teniendo en cuenta HCM (hemoglobina Corpuscular Media) y la CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media)		
Índice	Moderada 2+	Marcada 3+
Células por campo c/c	11 - 20	> 20
HCM 28-32 (Pg)	25 - 27	< 24
CHCM 32 a 36 gr%	29 – 30.5	< 29
Evaluación de anisocitosis según ADE		
Normal	Moderada 2+	Marcada 3+
0 – 10 c/c	11 – 20 c/c	> 20 c/c
ADE 10.6% - 14.5%	18.1 - 20	> 20
Cada laboratorio debe establecer sus intervalos biológicos de referencia en función de: la población atendida, el nivel del laboratorio, la instrumentación y los métodos utilizados		

### Variaciones cualitativas línea leucocitaria

Línea leucocitaria sistemas de registro de hallazgos morfológicos			
Rasgo morfológico	Ligera 1+	Moderado 2+ %	Marcado 3+ %
Cuerpos de Döhle	N/A	2 – 4	> 4
Neutrófilos vacuolización	N/A	4 – 8	> 8
Neutrófilos hipogranulación	N/A	4 – 8	> 8
Neutrófilos Granulación tóxica	N/A	4 – 8	> 8

De acuerdo al Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) y a la Organización Mundial de la Salud 2008 (OMS) reportar el diferencial de los subtipos leucocitarios (con revisión a 200 células) mejora la imprecisión en el diferencial manual.

Las anomalías cualitativas de la línea leucocitaria están apoyadas en alteraciones del tamaño, la forma nuclear, patrón de la cromatina, apariencia del citoplasma e inclusiones celulares.

- **Blastos:** cuantificarlos y caracterizarlos morfológicamente teniendo en cuenta el tamaño, la relación núcleo-citoplasma, el aspecto estructura de la cromatina, la forma y aspecto del núcleo, la presencia de nucléolos, gránulos, vacuolas o bastones de Auer, irregularidades nucleares (plegado, convoluto), irregularidades citoplasmática (seudópodos) o pequeñas protuberancias citoplasmáticas (ampollas). No reportar la ontogenia de los blastos.
- **Promielocitos leucémicos:** Cuantificarlos y caracterizarlos morfológicamente, en la variante hipogranular o microgranular, la forma nuclear suele ser bilobulado pero el citoplasma contiene pocos o ningún gránulos, está la variedad hipergranular y con bastones de Auer en empalizada.
- **Promonocitos:** La recomendación es contarlos en el diferencial aunque no es de importancia práctica, la diferencia entre un monoblasto y un promonocito se considera que tienen el mismo significado clínico.

Ciertos laboratorios tienden a no informar los neutrófilos en banda debido al alto coeficiente de variación entre observadores. Esta es una práctica reconocida y aceptada; se recomienda que los neutrófilos en banda se incluyan entre los neutrófilos segmentados.

Los granulocitos inmaduros (promielocitos, mielocitos y metamielocitos), precursores de los neutrófilos, no se observan normalmente en sangre periférica. Su presencia es el criterio objetivo en el significado clínico de la desviación a la izquierda que la pobre reproducibilidad del conteo de bandas.

### **Segmentación nuclear en los neutrófilos**

Se define hipersegmentación cuando cualquier neutrófilo presenta 6 o más lóbulos, incluso cuando más del 3% de los neutrófilos tienen 5 lóbulos al evaluarse 100 neutrófilos. Se recomienda hacer comentarios sobre la presencia de neutrófilos hipersegmentados.

Los neutrófilos hiposegmentados - neutrófilos hipolobulados (Pelger-Huët) deben ser contados y reportados como neutrófilos segmentados maduros, además se debe incluir un comentario interpretativo adecuado. Estos neutrófilos no deben

confundirse con mielocitos, metamielocitos o neutrófilos banda; por el contrario, son neutrófilos maduros y pueden ser diferenciados por su núcleo más pequeño y la cromatina nuclear condensada.

Reportar Bastones de Auer cuando se ven.

### **Cambios displásicos**

La displasia hace referencia a células morfológicamente anormales por falla en el desarrollo y la maduración; se incluye formas nucleares anormales, puentes nucleares, células anormalmente grandes o pequeños, hipo o híper segmentadas, hipo o híper granulares o con granulación anormal (gránulos grandes fusionadas y bastones de Auer), citoplasma persistentemente basófilo o tinción citoplasmática no uniforme.

La recomendación es hacer un comentario interpretativo adecuado sobre la presencia de displasia.

Cabe señalar que el diagnóstico y clasificación de síndrome mielodisplásico, según la clasificación de la OMS 2008, requiere un conteo en porcentaje de los cambios displásicos por linaje.

### **Alteraciones cualitativas en las células linfoides**

Los rasgos morfológicos de los linfocitos está sujetos a una amplia variedad de estímulos inmunológicos tanto en enfermedades inflamatorias e infecciosas, como en trastornos neoplásicos (leucemias y linfomas con expresión en sangre periférica), resultando en una gran variedad de linfocitos circulantes con anomalías morfológicas.

La gran variedad de denominaciones del polimorfismo de células linfoides pone de relieve la necesidad de simplificar esta terminología, algunas de ellos utilizados para describir algo similar dando lugar a confusión.

Linfocitos variantes, reactivos, grandes, pequeños, activados, atípicos, anormales, inmunoblastos, inmuno-estimulados, virocitos, con núcleo clivado, con prolongaciones de la membrana citoplasmática, con núcleo cerebriforme, hiperbasofilos, grandes granulares, células Türk, células de Downey type1-3, combinaciones de las células, por ejemplo linfocitos monocitoides.

Se recomienda que el término “linfocitos reactivos” se utilice para describir los linfocitos de etiología benigna, se cuantifiquen como una población separada en el diferencial y si están presentes en cantidades significativas.



En sujetos normales el 10-20% de los linfocitos grandes granulares están presentes, no se cuentan como una población de linfocitos separada. Los Linfocitos en sangre de bebe son más polimórficos que los observados en sangre de adultos.

La clasificación general y la descripción de los linfocitos sospechosos de células con una etiología de neoplásica, están más allá del alcance de este artículo. Invito al lector consultar la clasificación de la OMS de los tumores de los tejidos linfoides y hematopoyética.

Se recomienda que las células linfoides anormales, que se pueden identificar como un tipo de célula neoplásica en particular (células peludas, células plasmáticas, células de linfoma, prolinfocitos) basado en la morfología distintiva, se cuentan como una población separada de linfocitos anormales, otras células linfoides anormales pueden ser descritas en el comentario.

En discrasias de las células plasmáticas, los plasmocitos deben ser incluirlos en el diferencial como la células que son y agregar comentario (células plasmáticas con patrón morfológico atípico: células con inclusiones nucleares o citoplasmas (estructuras cristalinas, tubulares, vacuolas) plasmocitos con descripciones específicas (Cuerpos Dutcher, Células de Mott, Cuerpos de Russell).

El uso de esta nomenclatura subraya el valor diagnóstico limitado de la morfología en las neoplasias linfoproliferativas donde el diagnóstico final se determina por citometría de flujo (inmunofenotipo).

Las células peludas se cuantifican como linfocitos anormales, se describen las características morfológicas en un comentario; después de inmunofenotipificación, las células pueden ser contadas como células peludas en el diferencial.

### **Las células de linfoma**

Linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de Burkitt - Síndrome de Sézary - leucemia / linfoma Células T del adulto

Se recomienda que las células de linfoma se cuentan como linfocitos anormales incluir una descripción detallada de las características morfológicas de las células, después del inmunofenotipaje, las células pueden ser contados como células de linfoma en el diferencial Prolinfocitos.

Los prolinfocitos deben ser contados como una población separada en el diferencial.

## Restos celulares

La visualización en la sangre periférica de las llamadas "células de tinta corrida" o "Sombras de Gümprecht", corresponden a artefactos producidos por el daño de los núcleos de los linfocitos frágiles que se rompen al hacer el extendido. Se puede prevenir la ruptura celular adicionando a cuatro partes de sangre una parte de albúmina y así permitir la identificación de las células frágiles y su inclusión en el diferencial.

Cuando la naturaleza de las células en el frotis es aparente, se recomienda que deben contarse como las células de la que se derivan (CLL) leucemia linfoide crónica, la presencia de sombras de Gümprecht debe ser comentado en el informe.

## Anomalías cualitativas de las Plaquetas

Rasgo morfológico	Sistema de clasificación		
	Pocos 1+	Moderado 2+ %	Marcado 3+ %
Plaquetas gigantes	N/A	11 – 20	> 20

El tamaño de las plaquetas es de importancia diagnóstica; en particular cuando se considera en relación con el recuento de plaquetas. Se debe informar la presencia de plaquetas pequeñas, grandes o gigantes haciendo uso del parámetro VPM (volumen plaquetario medio) que orienta la clasificación microscópica del tamaño de las plaquetas.

Hacer comentario interpretativo referente a la distribución de las plaquetas (satelitismo plaquetario o agregados plaquetarios) que pueden afectar los conteos de plaquetas, al igual las inclusiones en las plaquetas hipogranulares o la ausencia total de gránulos y la presencia de vacuolas.

En muestras normales puede observarse algunas plaquetas hipogranulares, hasta un 5% de plaquetas de tamaño grande, las plaquetas aumentan de tamaño gradualmente durante el almacenamiento con EDTA.

Se puede concluir:

- Existe la necesidad de estandarizar la nomenclatura, clasificación y presentación de informes de las anomalías morfológicas que se observan en la revisión del FSP y el recuento diferencial.
- El propósito es lograr resultados confiables y reproducibles que aporten información útil al proceso diagnóstico y terapéutico
- Es responsabilidad del morfológico: reconocer, identificar y cuantificar cualquier anomalía en el FSP.

- Jerarquizar por importancia clínica la(s) anormalidad(es) celulares que beneficie al paciente si lo son: la valoración, la interpretación, su significado y el impacto sobre las decisiones médicas.

## Bibliografía

1. L. Palmer, C. Briggs, S. Mcfadden, G. Zini, J. Burthem, G. Rozenberg, P. Proytcheva, S. J. Machin. *ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features International Journal of Laboratory Hematology*. 2015 John Wiley & Sons Ltd., Int. Jnl. Lab. Hem. 2015, 37, Pg. 287–303
2. Gina Zini, Barbara Bain, Peter, Bettelheim, Jose Cortez, Giuseppe, d'Onofrio, Edgar Faber, Torsten, Haferlach, Petra Kacirkova, Krzysztof, Lewandowski, Estella Matutes, Marc Maynadie, John Meletis, Bodil L. Petersen, Anna Porwit, Evangelos Terpos, André Tichelli, Teresa Vallespi, Soledad Woessner, John Bennett and Marie C. Bene. *A European Consensus Report on Blood Cell Identification: Terminology utilized and Morphological diagnosis concordance among 28 experts from 17 countries within the European Leukemia Net Network WP10, on behalf of the ELN Morphology Faculty*. British Journal of Haematology, Blackwell Publishing Ltd., 2010, 151, Pg. 359–364.
3. B. T. Constantino. *Reporting and Grading of Abnormal Red Blood Cell Morphology*. International Journal of Laboratory Hematology. John Wiley & Sons Ltd., Int. Jnl. Lab. Hem. 2015, 37, Pg. 1–7.

## PLATELET FUNCTION TESTING FROM A TO VWF

David Pearman

Bioquímico de la Universidad de Indiana

This presentation is an overview of Platelet Function testing, discussing brief Biology, history, and technologies from traditional to novel options for diagnosing platelet driven diseases, augmenting various therapies as well as utility for measuring new anti-platelet drugs.

Platelets are disk-shaped cells that circulate in the blood which are derived from megakaryocytes in the bone marrow. Platelets participate in formation of the hemostatic plug and are implicated in thrombotic events as well as revascularization and other physiological events of growth and repair. Furthermore platelets have been identified as vehicles for delivery of hemostatic factors and other important biological agents such as growth factors.

Since the early days of Platelet Function Testing by such pioneers like Dr. Gus Born, clinicians seek the benefits of utilizing evolving platelet function testing technologies to diagnose certain genetic and acquired dysfunction. As therapies have advanced, particularly cardiovascular medicine and transplantation, platelet function testing continues to develop as a valuable and functional tool for transfusion medicine. Besides the many key roles in platelets play in hemostasis and overall homeostasis (or lack thereof in the case of diseases), the rampant use

of new anti-coagulant and anti-platelet drugs is driving a greater need for diagnostic tools.

Traditional methods for platelet function testing known as platelet aggregation, primarily PRP (Platelet Rich Plasma) also known as LTA (Light Transition Aggregometry) have sustained a long reign as the gold standard. Major benefits are realized with LTA because specific agonists can afford evaluation of specific receptor driven platelet function processes as well as the effect on the kinetic properties of platelet function. In-vivo, platelets participate in primary hemostasis by first adhering and then aggregating (cohesion) at the site of an breached blood vessel. Platelet aggregation is measured via PRP or LTA in- vitro by adding agonists such as collagen, ADP, arachidonic acid, and epinephrine to platelet rich plasma while it is stirred constantly. The change in absorbance or transmittance (based on technology) is measured and recorded over time. By titrating certain agonists, the level of dysfunction can be determined which is a very important tool for the clinician to better treat patients. Ristocetin cofactor is a property of von Willebrand factor (vWf) which promotes platelet agglutination of platelets in the presence of ristocetin allowing quantitation of vWf activity.

While the aforementioned is in fact the best comprehensive method for diagnosing genetic and acquired disorders, it suffers from laborious procedural requirements including centrifugation steps necessary for separating platelet rich plasma from platelet poor plasma. Further precluding LTA from universal use is the time required to spin the samples then the analysis with specific platelet agonists. Many hospitals and clinics either do not offer LTA or have eliminated it from the laboratory test menu. Furthermore, globally, education and training programs seem to reduce the emphasis of platelet function testing.

New technologies have evolved that are faster and more portable, and give results that are more easily interpreted by the end user. In the case of cardiovascular surgery and other highly invasive therapies, these new technologies have emerged as an effective tool to better treat the patient by driving transfusion which also yields a great benefit in blood conservation. Some of those tools as well as others provide an added benefit by serving as a general screen for platelet function. Some have also been proven as effective tools for measuring the effects of traditional drugs like aspirin as well as modern drugs such as Plavix and Effient.

Participants will be encouraged to ask questions as well as discuss needs and expectations specific to their institutions or programs. The presenter will seek to contribute additionally by sharing years of experiences taken from travels throughout the world in various clinical settings.

## QUALITY CONTROL IN COAGULATION

Piet Meijer

Biochemist, PhD in Haemostasis. ECAT Foundation, Voorschoten, The Netherlands

The blood coagulation system is a dedicated balance between pro- and anticoagulant factors to keep the blood fluently within the vessel wall as well as protect the body from excessive blood loss during damage of blood vessels. A disturbance of this balance may lead to on one hand thrombosis and the other hand bleeding disorders.

As a starting point for the diagnosis of abnormalities in the coagulation system a laboratory may perform general screening tests like APTT and PT/INR. Although these tests may give useful information, they are not very specific and may only serve as a first starting point for a proper diagnosis of abnormalities in the coagulation system. For clinical laboratories that are involved in the diagnosis of coagulation abnormalities it is therefore important to have at their disposal a full range of coagulation tests. This should include both tests for the detection of bleeding disorders, like specific clotting factors tests or testing of Von Willebrand Factor, and tests for the detection of thrombosis, like D-Dimer, Lupus Anticoagulant and thrombophilia markers.

Because laboratory testing plays an important role in the diagnosis and treatment of patients, it is important that reliable results are produced by the laboratory. Here both internal and external quality control plays an important role. The ECAT Foundation is a large international external quality assessment (EQA) programme in coagulation with more than 20 years experience in organizing EQA surveys. During the presentation the importance of several specialized coagulation tests in either the diagnosis of thrombosis or bleeding disorders will be discussed. Based on results of the ECAT EQA programme pitfalls in laboratory testing will be shown. For instance, it has been shown in the literature that with some activator reagents in the Factor VIII test it is impossible to detect severe haemophilia A patients. In our EQA programme we were able to confirm this finding. In our EQA surveys we have also observed serious difficulties of laboratories to proper detect weak Lupus Anticoagulant positive patient samples. Here we revealed that one of the major problems is the correct interpretation of test results. These two examples show how participation in such an EQA programme may benefit laboratories in awareness of problems as well as in quality improvement in coagulation testing. More examples will be shown during the presentation.

It should be realized that proper laboratory testing in haemostasis is not just to convince laboratory personnel but it is for the benefit of the patient.

## UTILIDAD CLÍNICA Y LIMITACIONES DE LA PRUEBA DE COOMBS

Armando Daniel Cortés Buelvas

MD, Especialista en Anatomía Patología y Patología Clínica

Profesor Titular y Jefe del Departamento de Patología de la Universidad del Valle Director del Homocentro del Valle del Cauca, Cali Colombia acortes59@gmail.com Presidente del Grupo Colaborativo Iberoamericano de Medicina Transfusional (GCIAMT)

Los anticuerpos contra eritrocitos son gammaglobulinas, predominantemente de clase IgG o IgM. Los anticuerpos de clase IgM son capaces de sensibilizar los hematíes suspendidos en salina, cuando reconocen un antígeno específico en su membrana, y producir posteriormente aglutinación directa de los hematíes adyacentes (anticuerpos completos). Por el contrario, los anticuerpos de clase IgG son capaces de unirse a los hematíes, pero no de producir aglutinación por sí solos (anticuerpos incompletos).

La antiglobulina humana (AGH) o suero de Coombs fue desarrollado en el año 1945 por Coombs, Mourant y Race, con el fin de detectar los anticuerpos eritrocitarios incompletos.

Es posible obtener AGH con diferentes especificidades, que puedan unirse tanto a inmunoglobulinas como a fracciones del complemento. Existen en la actualidad hay diferentes reactivos de AGH.

**Antiglobulina poliespecífica:** se utiliza para la realización de la prueba directa de antiglobulina (PDAG), con el fin de identificar anticuerpos irregulares y pruebas de compatibilidad. Contienen anticuerpos frente a IgG y la fracción C3d del complemento, de origen humano. Pueden incluir otros anticuerpos, como anti-C3b, C4b y C4d. Dado que los anticuerpos de mayor significado clínico son de clase IgG, la función más importante de la AHG poliespecífica, en la mayoría de técnicas, es detectar este tipo de anticuerpos incompletos. El componente anti-complemento tiene una utilidad más limitada en las pruebas de compatibilidad y en el estudio de anticuerpos irregulares, debido a que los anticuerpos detectables únicamente por su habilidad de unirse al complemento, son raros. Sin embargo, la actividad anti-C3d es importante en la investigación de la anemia hemolítica autoinmune (AHA). En algunos pacientes con AIHA, C3d puede ser la única globulina detectable en la membrana de los hematíes.

**Antiglobulina monoespecífica:** los antisueros monoespecíficos de origen animal son policlonales. Se pueden obtener reactivos monoespecíficos monoclonal mediante la tecnología de hibridomas. Los más utilizados son anti-IgG y anti-C3d. Empleándose cuando la prueba directa de antiglobulina es positiva con el reactivo poliespecífico, para caracterizar las proteínas implicadas. En los casos de pacientes con sospecha de anemia hemolítica autoinmune, en los que la PDAG es negativa (2%-10%), está indicada la utilización de antisueros anti-IgM y anti-

IgA. Muchos prefieren utilizar el reactivo monoespecífico anti-IgG, en lugar del poliespecífico, en las pruebas de compatibilidad y en los estudios de anticuerpos irregulares, para evitar la interferencia del complemento debido a la presencia de crioaglutininas que no son clínicamente significativas.

Por otra parte, el test de Coombs es, la base de dos pruebas fundamentales en Inmunoematología: la prueba directa de antiglobulina o test directo de Coombs y la prueba indirecta de antiglobulina o test indirecto de Coombs:

**Prueba directa de antiglobulina o Test directo de Coombs:** permite estudiar la unión antígeno-anticuerpo producida *in vivo*, y detectar la presencia de inmunoglobulinas y/o fracciones del complemento adheridas *in vivo* a los hematíes. Es una prueba diagnóstica, básica para el estudio de los procesos hemolíticos inmunes. Su empleo está indicado en los siguientes casos, Veamos:

- Tras el hallazgo de un autocontrol reactivo en el estudio de anticuerpos irregulares debido a la presencia de autoanticuerpos o aloanticuerpos en el contexto de una reacción serológica postransfusional.
- En el estudio de anemia hemolítica autoinmune: para conocer la clase de proteína implicada, dado que tiene valor en el diagnóstico. En el estudio de reacción hemolítica postransfusional para descartar un proceso hemolítico autoinmune frente a los hematíes recién transfundidos.
- En el estudio de la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido En el estudio de una prueba cruzada incompatible.
- En el estudio de donantes con SCR positivo o con Rh (D) negativo, pero positivo en técnica de antiglobulina.

El hallazgo de una PDAG positiva no siempre se asocia a un proceso hemolítico y no siempre tiene significación clínica. Se ha descrito en 1% a 15% de pacientes y de 0,01% a 0,1% de donantes de sangre, en la mayoría de casos debido a la adsorción inespecífica existencia de niveles elevados de gammaglobulinas en plasma. En 65%-80% de los casos, los eluidos no son reactivos, lo que sugiere que no hay anticuerpos adheridos en los hematíes. Lo más frecuente es que no haya patología asociada, aunque se ha descrito su relación con enfermedades autoinmunes incluso con un mayor riesgo de desarrollar neoplasias hematológicas. Algunos fármacos modifican la membrana de los hematíes induciendo la adsorción de muchas proteínas, incluyendo IgGs. El mismo mecanismo se relaciona con infecciones víricas o bacterianas. Otras razones incluyen: inmunocomplejos o complemento adherido a la membrana de los hematíes (en ocasiones relacionados con la presencia de fármacos); transferencia pasiva de aloanticuerpos, procedentes de componentes sanguíneos transfundidos; poliaglutinabilidad de los hematíes: exposición del antígeno T en la membrana, en relación con procesos infecciosos y contaminantes de los tubos (suciedad, sílice y iones metálicos).

Las causas más frecuentes de falsos negativos incluyen nivel de inmunoglobulinas y/o complemento adherido a los hematíes, por debajo del umbral del método utilizado. Inmunoglobulinas de clase IgA o IgM, no detectables habitualmente por los reactivos de rutina, autoanticuerpos IgG de baja afinidad, que se eliminan durante la fase de lavado.

**Prueba indirecta de antiglobulina (PIAG):** El propósito es estudiar la unión antígeno-anticuerpo tras incubación *in vitro*. Es la técnica básica para el trabajo en el laboratorio de Inmunoematología, permite detectar la presencia de anticuerpos de clase IgG, evitando reacciones falsamente negativas y la pérdida de información sobre posibles anticuerpos eritrocitarios clínicamente significativos e incompatibilidades pretransfusionales. Permite detectar > 95% de los anticuerpos importantes con escasos falsos positivos. Se utiliza para: el estudio de anticuerpos irregulares tanto en pruebas de escrutinio como de identificación y titulación; la determinación del fenotipo eritrocitario, en algunos casos en los que los reactivos son de clase IgG (anti-S, anti-Jka etc.); las pruebas cruzadas pretransfusionales; el estudio de anticuerpos irregulares tras procesos de elución y adsorción y el estudio de fenotipos Rh (D) débiles. Son causa de resultados falsos negativos; la neutralización del reactivo antiglobulina, fallo del lavado de los hematíes, contaminación del reactivo antiglobulina por proteínas exógenas, elevada concentración de paraproteínas IgG en el suero problema, interrupción del test, conservación incorrecta de los reactivos, pérdida de reactividad de la antiglobulina por congelamiento, tanto el exceso de calor como los procesos de congelación-descongelación son causa de pérdida de reactividad del suero problema y los hematíes reactivos pueden perder fuerza antigénica durante el almacenamiento, procedimientos incorrectos, una agitación excesiva al deshacer el botón en la lectura de la prueba, una sobrecentrifugación puede compactar tanto los hematíes que la agitación intensa necesaria para deshacer el botón puede producir rotura de los aglutinados, una centrifugación demasiado suave no es óptima para conseguir la aglutinación, fallos en la adición del suero problema, potenciadores o antiglobulina pueden producir falsos negativos, proporción suero-hematíe inadecuada: una concentración demasiado elevada de hematíes puede enmascarar una débil aglutinación; una concentración demasiado baja no permite valorar el grado de aglutinación. Algunos anticuerpos, como ciertos anti-Jka, Jkb, son detectados únicamente cuando se utiliza antiglobulina poliespecífica y existe complemento activo en la muestra (suero), un ph bajo (< 7) de la solución salina puede reducir la sensibilidad. El pH óptimo para la mayoría de anticuerpos es 7-7,2. Las causas de resultados falsos positivos se incluyen la aglutinación celular previa al lavado, existencia de partículas o contaminantes, procedimiento incorrecto, una sobrecentrifugación, la centrifugación de los test en los que se utiliza PEG o polímeros cargados positivamente antes del lavado, puede producir agregados que no se dispersan. Los hematíes con un test directo de antiglobulina positiva producirán un resultado positivo en todos los test basados en la prueba indirecta de antiglobulina. Existen procedimientos que permiten retirar las moléculas de IgG



de la membrana de los hematíes, evitando esta falsa reacción. Los componentes del complemento (sobre todo la fracción C4) pueden unirse a los hematíes de la sangre coagulada o anticoagulada con CPDA-1. Para realizar la prueba directa de antiglobulina es mejor utilizar hematíes de muestras anticoaguladas con EDTA, ACD o CPD. El complemento puede unirse a los hematíes en las muestras obtenidas de vías de infusión utilizadas para administrar soluciones que contienen dextrosa.

## MICOLOGÍA A LA VANGUARDIA

### SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE *CANDIDA SPP* A AZOLES, ANFOTERICINA B Y CANDINAS SEGÚN ESTÁNDARES EUCAST Y CLSI

Carmen Ana Vides Peña, Nalleth Bolaño Ardila, Maryuris Vides Peña  
Microbióloga, MSc en Microbiología Clínica. Grupo GREMIC, Universidad Popular del Cesar.  
Valledupar, Colombia. [carmenvides@unicesar.edu.co](mailto:carmenvides@unicesar.edu.co)

#### Introducción

El estudio epidemiológico de las infecciones fúngicas constituye un componente importante en la dinámica de su diagnóstico y tratamiento, sobre todo en pacientes que poseen disfunciones del sistema inmune u otros factores de riesgo asociados a la ocurrencia de cuadros invasivos. *Candida spp*, se presenta como el género levaduriforme más frecuentemente implicado en la etiología de éstos episodios en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) (1), en donde se asocia además, con una mortalidad significativa (2), cercana al 80% (3).

Los aspectos epidemiológicos de la candidemia han sido más ampliamente estudiados en Estados Unidos y Europa que en América Latina, por lo que la información que al respecto se tiene en ésta última región geográfica está limitada a estudios retrospectivos hechos en un restringido número de centros médicos de países como Argentina y Brasil (4). No obstante, los datos derivados del primer estudio multicéntrico sobre esta entidad clínica desarrollado en varios países de Latinoamérica entre 2008 y 2010, mostraron que hay alta incidencia, alta proporción de niños afectados (no solo neonatos) y una distribución de especies marcada por altas tasas para *Candida tropicalis*, el Complejo *Candida parapsilosis* y *Candida guilliermondii*, contrastadas con las bajas tasas encontradas para el Complejo *Candida glabrata* (5).

En adición, el comportamiento de la respuesta a los antifúngicos y distribución que muestran éstas y otras especies del género *Candida* han variado de manera importante de acuerdo a su ubicación geográfica, el servicio de hospitalización y

los factores de riesgo de los pacientes (6), por lo que se hace necesario analizar en los aislamientos (en especial en los obtenidos a partir de muestras estériles), el perfil de sensibilidad a los fármacos disponibles para su tratamiento (7), buscando aportar con ello, herramientas útiles en el diseño de los esquemas terapéuticos empíricos usados para el manejo de la candidiasis invasiva en los centros asistenciales, pues vistos de tal forma, estos episodios hoy por hoy deben ser atendidos de otra manera, lo que demanda en clínicos y microbiólogos el aumento del nivel de alerta ante la sospecha de fungemias en estos pacientes.

### **Determinación de la sensibilidad a antifúngicos en *Candida* spp.**

En 1997, el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS por su siglas en inglés), actualmente *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI por su siglas en inglés) publicó en Estados Unidos el primer documento estándar internacional para determinar la sensibilidad antifúngica de algunas especies de *Candida* spp. La metodología consistente en un protocolo de macrodilución en caldo fue adaptada posteriormente a microdilución y fundamentada en observar la capacidad del antifúngico para inhibir el crecimiento de las levaduras a diferentes concentraciones que permitiera determinar (en mg/L o µg/mL) el parámetro denominado *Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)*, definido como la menor concentración de antifúngico capaz de generar una reducción visible en el crecimiento del microorganismo (aproximadamente del 50%). Este documento (denominado M27-A) (8,9) está actualmente aprobado para estudiar la sensibilidad a candidinas y a algunos azoles en los Complejos *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y en *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, y *Candida guilliermondii*. Así mismo, el CLSI estandarizó las condiciones para determinar la sensibilidad antifúngica en *Candida* spp, (usando las categorías sensible, sensible dependiente de dosis, resistente y/o no sensible) a caspofungina, fluconazol y voriconazol por el método de disco difusión (documento M44-A) (8,) y a partir de los principios de estas metodologías, se han desarrollado diversos métodos comerciales para el mismo propósito.

Más recientemente, el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST por su siglas en inglés) aprobó para estudiar la sensibilidad a anfotericina B, algunas candidinas y azoles también en los Complejos *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y en *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, y *Candida guilliermondii*, la metodología basada en la microdilución en caldo (documento EDef 7.0) (10), puesto que esta técnica constituye el estándar de oro para determinar la sensibilidad antifúngica *in vitro*.

Ambos estándares han propuesto puntos de corte clínicos (*Clinical breakpoints*, CBP), definidos como los basados en el estudio de la actividad farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) del antifúngico en animales de laboratorio, su evolución clínica y terapéutica, así como en el análisis de los mecanismos de resistencia desarrollados por los microorganismos. Estos puntos de corte pueden ser

utilizados como guía para elegir la terapéutica más eficaz al categorizar a los aislados en clínicamente sensibles, sensibles dependientes de dosis o intermedios (éstos dos últimos criterios aplicables solo por el estándar del CLSI) o resistentes ante las CIM observadas en los antifúngicos usados en farmacoterapia (7,8).

En los casos en los que el estándar no ofrezca CBP para algunos antifúngicos (como ocurre con el del CLSI para anfotericina B), el uso de puntos de corte epidemiológicos (*Epidemiological cutoff-value*, ECV) puede ser muy útil (1,3), pues estos permiten monitorear la aparición de resistencia en la comunidad e implementar estrategias de control que minimicen el impacto de resistencias en la región, dado que se basan en la distribución de la CIM poblacional para un microorganismo dado y separan la población salvaje (*wild type*) (sin mecanismos de resistencia) de los aislados con algún mecanismo de resistencia, que no pertenecientes a la población salvaje (*non-wild type*) indicando que los microorganismos que son inhibidos con CIM superiores al ECV se clasifican como aislados con sensibilidad reducida, aunque pueden responder al tratamiento si la CIM del antifúngico es inferior al punto de corte clínico (3,8).

## Conclusión

En general, las dos metodologías basadas en microdilución en caldo son fiables, reproducibles (pues controlan factores que influyentes como el tamaño del inóculo, la composición y pH del medio, el formato de la prueba y la temperatura de incubación), comparables al predecir falla terapéutica y muy útiles para la vigilancia epidemiológica (8). El método propuesto por el EUCAST ha demostrado equivalencia al del CLSI en materia de levaduras no fermentadoras y por lo tanto, sólo ha sido validado para *Candida* spp. Ambos estándares usan el mismo medio de prueba (RPMI 1640 con glutamina, sin bicarbonato y con una concentración de glucosa de 0,2% y 2%, CLSI y EUCAST, respectivamente)(9,10) y se incuban a una temperatura de entre 35 y 37°C. Desde el punto de vista práctico, el método propuesto por el EUCAST es más fácil de interpretar dada su lectura espectrofotométrica y la obtención de resultados definitivos a las 24 horas de incubación (11), frente al propuesto por el CLSI que sugiere una lectura visual y una incubación de 48 horas para los azoles.

Pese a las desventajas que estas pruebas de sensibilidad pudieran llegar a tener (asociadas principalmente a costos, fallas en la discriminación de cepas resistentes a anfotericina B, falta de establecimiento de puntos de corte para varios hongos y fármacos antifúngicos, crecimiento residual o *trailing* descrito con fármacos fungistáticos, problemas de crecimiento en determinadas especies y requerimiento de personal entrenado para la lectura de los resultados, principalmente en las realizadas de manera visual) (11), constituyen una herramienta realmente útil en el manejo de los episodios invasivos causados por *Candida* spp. y en razón de ello, debieran estar disponibles en la mayoría de los laboratorios de microbiología clínica que apoyan la labor asistencial.

## Referencias

1. Akeme A., de Paula C., Dias L., *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of nosocomial candidiasis in university hospitals in Cuiabá--Mato Grosso, Brazil. *Rev Iberoam Micol.* 2012; 29;(3):164–8.
2. Maubon D., Garnaud C., Calandra T., *et al.* Resistance of *Candida* spp. to antifungal drugs in the ICU: where are we now?. *Intensive Care Med.* 2014. *Intensive Care Med.* DOI 10.1007/s00134-014-3404-7.
3. De Bedout C. y Gómez B. *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Infectio.* 2010; 14(2): 159-171.
4. Colombo A., Nucci M., Park B., *et al.* Epidemiology of Candidemia in Brazil: a Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Centers. *J Clin Microbiol.* 2006;44(8):2816–23.
5. Nucci M, Queiroz-Telles F., Alvarado-Matute T., *et al.* Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. *PLoS One.* 2013;8(3):e59373.
6. Gómez C. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. *Infectio.*2010; 14(2): 172-180.
7. Zambrano-Marcos L., Escribano P., Recio S., *et al.* *Candida* y candidiasis invasora: estudio de la actividad antifúngica in vitro de arasertaconazol frente a cepas clínicas de *Candida* y caracterización molecular de cepas productoras de candidemia relacionada con el catéter. *Dianas.* 2013;2(1):1-9.
8. Córdoba, S., Vivot W, Szusz W. Curso a distancia y Taller “Determinación de la resistencia a antifúngicos en el laboratorio”. Departamento Micología. INEI, ANLIS.” “Dr. CARLOS G. MALBRAN” CABA, Argentina, 2013.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2012.
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).2014. Antifungal Agents Breakpoint tables for interpretation of MICs. Version 7.0, valid from 2014-08-12.
11. Zapata-González F., Cardona N. Lo que debemos saber sobre los métodos de sensibilidad a los antifúngicos. *Rev CES Med.* 2012; 26(1): 71-83.

## ONCOLOGÍA Y BIOMARCADORES TUMORALES ANALITOS DE IMPORTANCIA EN EL MANEJO CLÍNICO

### MARCADORES TUMORALES

Haroldo Estrada López

Médico Cirujano, Oncólogo Clínico, docente de la Universidad de Cartagena, Miembro Titular de la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología, Asociación Colombiana para el Estudio del Dolor.

La presentación tiene como objetivos definir los tiempos tumorales, que son los marcadores tumorales séricos, presentar el ideal de un marcador tumoral, hacer una revisión de los más usados y por último la utilidad clínica de cada uno de ellos. Cuando hablamos de tiempo tumoral, es el espacio de tiempo entre que una célula presenta transformación maligna, hasta que se hace detectable o el paciente muere.

La mayoría de las veces no podemos determinarlo en medida de tiempo sino en número de divisiones celulares. Los investigadores han esperado que los marcadores podrían ser útiles también como exámenes de detección que tengan la finalidad de detectar el cáncer inicial, antes de que haya síntomas, en esta fase preclínica.

### **Definir marcador tumoral**

El término “marcador” abarca todas aquellas sustancias o señales que pueden constituir una señal de la presencia o desarrollo de un tumor. Este biomarcador es sintetizado por el tumor y liberada a la circulación general, sin embargo puede ser producido por las células normales en respuesta a la invasión por células tumorales. La lógica sugiere que un marcador debería ser exclusivo de un enfermedad, es decir especificidad o sea un número razonable de falsos positivos y al mismo tiempo debería ser detectado aun cuando la cantidad de células tumorales sea mínima o sensibilidad, baja frecuencia de falsos negativos.

Sensibilidad: Capacidad para identificar correctamente a la gente que tiene la enfermedad. Especificidad: Capacidad para identificar correctamente a la gente que no tiene la enfermedad.

### **Tipos de marcadores tumorales séricos:**

1. Tisulares
2. Síndromes paraneoplásicos
3. Marcadores genéticos
4. Virales

El marcador tumoral sérico ideal tiene las siguientes características:

1. Ser producido solo por células tumorales
2. Ser detectable fácilmente en líquidos biológicos
3. Evidenciar las eventuales diferencias entre los individuos sanos y con neoplasia
4. Reflejar la cantidad de masa tumoral
5. Ser identificable en las fases iniciales y recidivas del tumor
6. Medir los resultados del tratamiento antineoplásico

Los marcadores tumorales séricos que serán revisados son

1. CEA
2. CA 15.3
3. CA 125
4. CA 19.9
5. PSA
6.  $\alpha$  fetoproteínas
7.  $\beta$  gonadotropina coriónica
8. Cromogranina A

## DESAFÍOS ACTUALES EN MICROBIOLOGÍA

### PRESEPSINA UNA OPORTUNIDAD FRENTE A LA SEPSIS

Ricardo Gómez Rodríguez  
Bacteriólogo

La sepsis puede ser definida como la "respuesta sistémica a la infección con la presencia de algún grado de disfunción de órganos" (2). Esta puede llegar a ser severa si hay disfunción orgánica aguda secundaria o llegar a shock séptico si hay hipotensión sin respuesta a fluidoterapia. Su incidencia presenta tasas de mortalidad que pueden llegar a ser mayores de 50% (2) y los altos costos en manejo de pacientes han convocado a que se atienda como un problema de salud pública y un reto constante que genera el interés permanente para desarrollar herramientas y estrategias diagnósticas efectivas para combatirla.

El enfoque de los marcadores bioquímicos para el manejo de sepsis se está centrando en marcadores específicos de infección y sobre todo en aquellos relacionados con la respuesta inmune innata como es el caso de un novedoso marcador bioquímico, el sCD14 subtipo conocido también como Presepsina (PSP) que ha despertado enorme interés reflejado en múltiples investigaciones y publicaciones las cuales han mostrado su desempeño clínico.

La presepsina es una glicoproteína de 13 KDa derivada a partir del clivaje del CD14, con una vida media 4-5 horas en plasma que está expresada en la superficie de la membrana de monocitos, macrófagos y polimorfos nucleares. CD14 sirve como receptor para los complejos antigénicos como lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y la proteína de fijación a lipopolisacáridos (LPB sigla en inglés). También puede unirse al peptidoglicano y otras estructuras de superficie, tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas. La cascada específica de señal pro-inflamatoria es activada por el toll-like receptor 4 (TLR4, CD 284) y/o toll-like receptor 2 que inducen una serie de vías de transducción las cuales desencadenan respuesta inflamatoria sistémica (1).

Por acción de proteasas plasmáticas, el fragmento soluble CD14 (sCD14) es vertido desde la membrana celular a la circulación donde es nuevamente fragmentado por proteasas tales como la elastasa o catepsina D especialmente luego de la fagocitosis) formando así el subtipo (sCD14-ST) o Presepsina (17).

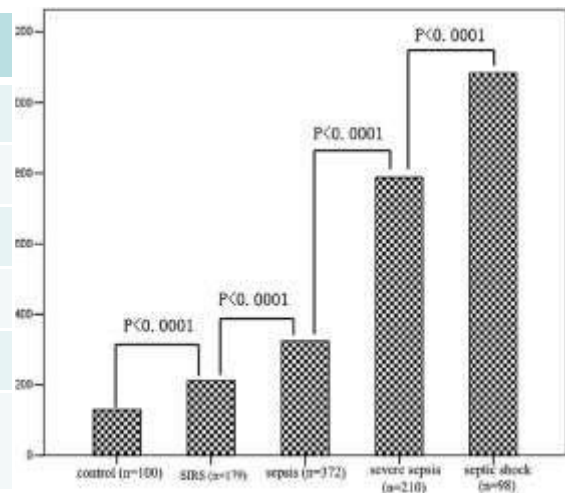
En personas sanas la Presepsina se encuentra en concentraciones muy bajas. Sin embargo, en pacientes con sepsis en relación con el proceso fagocitario se encuentran valores más altos desde una etapa muy temprana, incluso aún antes que aumenten otros marcadores como la IL-6 y PCT (8,16).

Los primeros ensayos para la determinación de Presepsina fueron por ELISA y en la actualidad está disponible por quimioluminiscencia enzimática con micropartículas magnéticas en sangre total o plasma.

### Utilidad de la Presepsina

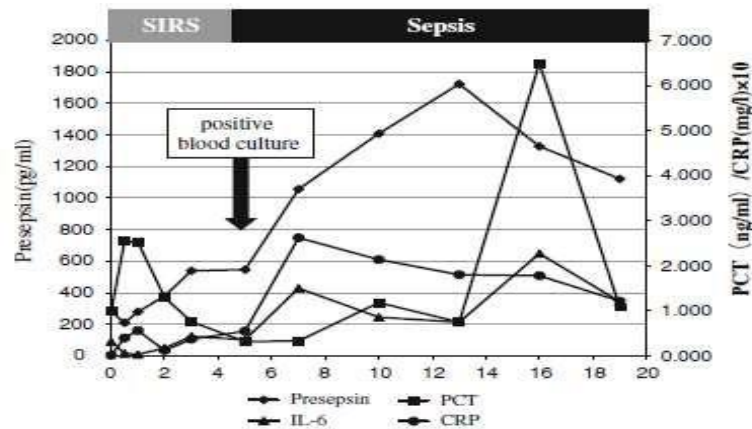
Como marcador diagnóstico y de pronóstico, múltiples estudios efectuados en varios países han evidenciado la diferencia de los niveles de Presepsina entre pacientes sanos, con SIRS y séptico; los diversos resultados frente a otros marcadores y pruebas utilizadas muestran sensibilidad y especificidad por encima del 80% y curvas ROC con áreas bajo la curva que oscilan entre 0,7-0,91. Los niveles del marcador también permiten determinar el grado de severidad de la sepsis. Del mismo modo la Presepsina se ha evaluado frente a sistemas de valoración de gravedad clínica tales como APACHE II y SOFA entre otros, con mejor correlación respecto de otros marcadores bioquímicos, reflejando el grado de severidad y de pronóstico de la sepsis y mejorando en combinación la sensibilidad y especificidad clínicas, tal y como se observa en la siguiente tabla de las Curvas ROC para predicción de sepsis severa a partir del estudio efectuado por Liu B, et al. (3).

Analito	AUC
Presepsina	0.840
PCT	0.741
MEDS	0.818
APACHE II	0.744
MEDS + Presepsina	0.875
APACHE II + Presepsina	0.858



Crit Care. 2013 Oct 20;17(5):R244

Otra característica importante de Presepsina frente a otros marcadores es que no se incrementa en SIRS u otros eventos inflamatorios no infecciosos lo cual es debido a su origen como respuesta frente a un evento infeccioso y no por a estrés o por activación como respuesta inflamatoria, como se presentó en trabajo de Shozushima (11) (ver gráfico abajo).



Shozushima et Al. J Infect Chemother. 2011;3:764–769

Adicionalmente los valores de presepsina también útiles para la predicción de mortalidad a corto (admisión), mediano (30 días) y largo plazo (90 días).

Se ha encontrado enorme utilidad del marcador en el diagnóstico temprano de sepsis neonatales incluyendo la sepsis tardía en recién nacidos, (6,7,13-15) frente a los marcadores tradicionales como PCT y PCR.

En el seguimiento terapéutico Presepsina también ha mostrado sus bondades. En un estudio (2) donde fueron analizadas muestras de 140 pacientes con sepsis que recibieron tratamiento antibiótico luego del diagnóstico de sepsis, PSP mostró claramente una tendencia de valores mucho más bajos en pacientes que sobrevivieron frente en un período entre 0 a 72 horas mientras que aquellos que fallecieron alcanzaron valores más elevados. En contraste PCT, IL6 y PCR a pesar de tener valores mucho más altos en no sobrevivientes mostró apenas una reducción parcial luego de 24 horas en los sobrevivientes.

En resumen Presepsina es una oportunidad disponible frente a la sepsis demostrando que:

- Es un biomarcador confiable, sensible y específico para sepsis
- Es un biomarcador útil para el diagnóstico muy temprano de la sepsis por bacterias Gram positivas, Gram negativas y hongos
- Presepsina se eleva más temprano que otros marcadores bioquímicos y no muestra elevaciones inespecíficas
- Sus valores ayudan a la estratificación de la severidad de la sepsis mostrando excelente correlación con las evaluaciones clínicas como APACHE II y SOFA
- Es un biomarcador con alto valor pronóstico y estratificación del riesgo
- Muestra una asociación entre la concentración plasmática y mortalidad
- Es útil para el seguimiento, su disminución durante la terapia predice un resultado favorable



## Bibliografía

1. Chenevier-Gobeaux Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis *Clinica Chimica Acta* 450 (2015) 97–103
2. Endo S, Takahashi G, Shozushima T, Matsumo N, Kojika M, Suzuki, Y, Inoue Y. Usefulness of presepsin (Soluble CD 14 Subtype) as a diagnostic marker for sepsis. *JJAAM* 2012;23:27-38.
3. Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, Shozushima T, Ishikura H, Murai A, Nishida T, Irie Y, Miura M, Iguchi H, Fukui Y, Tanaka K, Nojima T, Okamura Y. Presepsin as a powerful monitoring tool for the prognosis and treatment of sepsis: a multicenter prospective study. *J Infect Chemother.* 2014;20:30-4
4. Liu B, Chen YX, Yin Q, Zhao YZ, Li CS. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care.* 2013 Oct 20;17(5):R244
5. Marik , Paul E. Early Management of Severe Sepsis. *CHEST / 145 / 6 / JUNE 2014.* Pag 1407
6. Mussap M, Puxeddu E, Burrai P, Noto A, Cibecchini F, Testa M, Puddu M, Ottonello G, Dessì A, Irmesi R, Gassa ED, Fanni C, Fanos V. Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) presepsin in critically ill preterm newborns: preliminary reference ranges. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(5):51-3.
7. Mussap M, Puxeddu E, Puddu M, Ottonello G, Coghe F, Comite P, Cibecchini F, Fanos V. Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) presepsin in premature and full term critically ill newborns with sepsis and SIRS. *Clin Chim Acta.* 2015 Jul 29.
8. M Nakamura, T Takeuchi, K Naito, K Shirakawa, Y Hosaka, F Yamasaki, S Furusako. Early elevation of plasma soluble CD14 subtype, a novel biomarker for sepsis, in a rabbit cecal ligation and puncture model. *Critical Care* March 2008 Vol 12 Suppl 2, P194.
10. Rivers EP, Coba V, Whitmill M. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock: a contemporary review of the literature. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2008 ;21:128-40
11. R Sato, Y Suzuki, M Sato, G Takahashi, M Kojika, Y Inoue, S Endo. Serum levels of presepsin reflects the APACHE II and SOFA scores in patients with sepsis. *Critical Care* 2013, 17(Suppl 2):P37
12. Shozushima T., Takahashi G, Matsumoto N, Kojika M, Okamura Y. Endo Y. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Chemother.* 2011 Dec;17(6):764-9
13. Spanuth E, Ebelt H, Ivandic B, Werdann K. Diagnostic and prognostic value of Presepsin (soluble CD14 subtype). Emergency patients with early sepsis using the new assay PATHFAST. In "Advances in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine . Renz H, Tauber R edit. Walter De Gruyter, Berlin 2012:129-133
14. Topcuoglu S1, Arslanbuga C, Gursoy T, Aktas A, Karatekin G, Uluhan R, Ovali F. Role of presepsin in the diagnosis of late-onset neonatal sepsis in preterm. *Infants. J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Aug 10:1-6.
15. Magdalena Kwiatkowska-Gruca, Jakub Behrendt1, Alicja Sonsala, Dominika Wiśniewska-Ulfik, Bogdan Mazur, Urszula Godula-Stuglik. Presepsin (soluble CD14-ST) as a biomarker for sepsis in neonates. *Pediatrics Polska.* Volume 88, Issue 5, September–October 2013, Pages 392–397
16. Diagnostic Value of Presepsin (Scd14-St Subtype) Evaluation in the Detection of Severe Neonatal Infections. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)* Volume 3, Issue 1, January 2015, PP 110-116 ISSN 2349-0357 (Print) & ISSN 2349-0365
17. Yaegashi Y, Shirakawa K, Sato N, Suzuki Y, Kojika M, Imai S, Takahashi, G, Miyata M, Furusako S, Endo S. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis. *J Infect Chemother.* 2005;11:234-8
18. Y. Arai et al. Phagocytosis by human monocytes is required for the secretion of Presepsin. *J Infect Chemother.* 2015 Aug;21(8):564-9
19. Jiayuan Wu1 Presepsin (sCD14-ST), an innate immune response marker in sepsis. *PLoS One.* 2015; 10(7):

## NEUMONÍA NOSOCOMIAL Y NEUMONÍA ASOCIADA A VENTILADOR

Carmelo Dueñas Castell  
MD, Neumólogo

### Introducción

La neumonía asociada al ventilador es una infección del tracto respiratorio bajo asociada a la intubación endotraqueal y es, al mismo tiempo, una causa importante de morbilidad y mortalidad en la unidad de cuidado intensivo. Es también una de las infecciones relacionadas con el cuidado de la salud, más comunes en la unidad de cuidado intensivo. Aproximadamente el 10% de los pacientes con ventilación mecánica, desarrollarán la enfermedad. El riesgo de contraerla aumenta en relación directa con la duración de la ventilación mecánica y llega al máximo al quinto día después de la intubación. Se han reportado tasas acumuladas de 0 a 4,4 casos de neumonía asociada a la ventilación mecánica por 1.000 días de ventilación mecánica, con base en datos de vigilancia. Las tasas dependen de la población subyacente, del tipo de unidad de cuidado intensivo y del método de vigilancia. De otro lado, existe controversia acerca del grado de mortalidad atribuible a la neumonía asociada a la ventilación mecánica, pese a que hay estudios bien diseñados que muestran que es significativa y se encuentra entre el 1 y el 1,5%. Más aún, se asocia con tasas importantes de morbilidad, puesto que aumenta significativamente la duración de la estancia en la unidad de cuidado intensivo, la ventilación mecánica y la hospitalización.

### Fisiopatología

La fisiopatología de la neumonía asociada a la ventilación mecánica está mediada en gran parte por la introducción de un cuerpo extraño en la vía aérea alta, el tubo endotraqueal. Esto altera los mecanismos naturales que impiden el acceso de microorganismos al tracto respiratorio bajo.

### Bacteriología VAP

Hay variedad de microorganismos, tanto grampositivos como gramnegativos, que causan neumonía asociada a la ventilación mecánica. Tradicionalmente se pensaba que la duración de la ventilación mecánica era uno de los factores que determinaban la composición de los patógenos involucrados en la neumonía asociada a la ventilación mecánica. Por ejemplo, en la neumonía asociada a la ventilación mecánica temprana (considerada como menor a cinco días de ventilación mecánica), se creía que los patógenos predominantes eran *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina (MSSA) y *Enterobacteriaceae*. En contraste, en casos de neumonía asociada a la ventilación mecánica tardía (mayor a cinco días de ventilación mecánica) se pensaba que imperaban organismos multirresistentes a las drogas,

tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, y *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA). Sin embargo, estudios recientes contradicen esta teoría. De hecho, Restrepo et al., y Golia et al. aislaron *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* en pacientes con neumonía asociada a la ventilación mecánica tanto temprana como tardía. Chi et al. también encontraron que no había diferencias en los microorganismos aislados en muestras tempranas y tardías. En un estudio destacado, Martin-Loeches et al., examinaron patógenos de pacientes con neumonía asociada a la ventilación mecánica tanto con factores de riesgo para la infección con organismos multirresistentes como sin dichos factores. Encontraron que en los pacientes con riesgo de infectarse con organismos multirresistentes había mayor incidencia de estos patógenos, entre los que se encontraban *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, MRSA y *Stenotrophomonas maltophilia*. Por el contrario, los pacientes sin factores de riesgo para contraer infección por organismos multirresistentes tenían mayor incidencia de MSSA, *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. Según esto, la bacteriología de la neumonía asociada a la ventilación mecánica puede no seguir un patrón de infección temprana o tardía, especialmente en pacientes con riesgo de presentar infecciones por organismos multirresistentes.

Más aún, el tipo de población de la unidad de cuidado intensivo (médica, quirúrgica y de trauma) también puede asociarse con microorganismos específicos como agentes causales de la neumonía asociada a la ventilación mecánica. Por ejemplo, se han relacionado a *A. baumannii* y *S. aureus* con la neumonía asociada a la ventilación mecánica que se desarrolla en pacientes neuroquirúrgicos y con trauma craneoencefálico. Aquellos con trauma presentan tasas más elevadas de infección con *Haemophilus sp.*, o *S. pneumoniae*; los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) tienen mayor riesgo de contraer *H. influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, en tanto que los pacientes con bronquiectasia con frecuencia se infectan por *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Es importante anotar, sin embargo, que las bacterias causantes también pueden variar entre distintos centros de cuidado crítico. Este último punto subraya la importancia de contar con antibiogramas específicos para cada unidad y hospital, a fin de guiar la terapia empírica de la neumonía asociada a la ventilación mecánica.

## Diagnóstico

Tradicionalmente, el diagnóstico clínico de la neumonía asociada a la ventilación mecánica se ha basado en una combinación de factores como síntomas/signos clínicos, radiografía de tórax y datos microbiológicos. Los síntomas y signos clínicos comprenden cambios en el esputo o las secreciones traqueales en términos de purulencia, color y/o aumentos de la producción; tos; temperatura mayor a 38 o menor a 36 ° C; estertores o ruidos respiratorios bronquial y empeoramiento de la oxigenación. Los hallazgos de laboratorio incluyen indicadores inespecíficos de infección tales como leucocitosis ( $>12 \times 10^9$  leucocitos/L) o leucopenia ( $<4,0 \times 10^9$  leucocitos/L). La radiografía de tórax muestra hallazgos tales como el desarrollo de infiltrados nuevos o la presencia de infiltrados persistentes y/o que empeoran. Las

definiciones casuísticas publicadas incluyen distintas combinaciones de estos factores.

No hay ningún estándar de referencia para el diagnóstico de la neumonía asociada a la ventilación mecánica; los criterios clínicos más las técnicas de muestreo microbiológico carecen de especificidad y sensibilidad cuando se las compara con la demostración de neumonía en muestras histológicas obtenidas por biopsia o necropsia. Se ha reportado, por ejemplo, que los solos criterios clínicos tienen 91% de sensibilidad y 15% de especificidad.

De manera similar, la clasificación Clinical Pulmonary Infection Score (CPIS) emplea una combinación de hallazgos clínicos y radiográficos, además de información fisiológica y microbiológica para el diagnóstico de la neumonía asociada a la ventilación mecánica. Sin embargo, un metaanálisis reciente de 13 estudios mostró que la sensibilidad y especificidad de cada uno de estos para el diagnóstico era del 65%, dato confirmado en un estudio postmórtem más antiguo de pacientes sometidos a ventilación mecánica en el cual la sensibilidad y especificidad fueron inferiores al 70%.

Deben tomarse muestras del tracto respiratorio de manera rutinaria cuando existan sospechas clínicas de neumonía asociada a la ventilación mecánica. Esto puede hacerse por técnicas broncoscópicas o no broncoscópicas. El muestreo broncoscópico comprende el lavado broncoalveolar (BAL) y el cepillo con espécimen protegido (PSB), mientras que las técnicas no broncoscópicas incluyen el aspirado endotraqueal y el mini-BAL. El crecimiento bacteriano en cultivos semicuantitativos generalmente se reporta como fuerte, moderado, ligero o ninguno. En general, se hacen cultivos cuantitativos de muestras obtenidas por BAL o PSB, mientras que los semicuantitativos se hacen a partir de otras muestras, tales como aspirados endotraqueales. Si se realizan cultivos cuantitativos, se han fijado los umbrales para la presencia de infección en 104 unidades formadoras de colonias/mL (CFU/mL) en BAL y 103 CFU/mL en PSB. Aunque se ha tratado de promover la idea de que los cultivos cuantitativos son más específicos de infección, un análisis reciente de Cochrane que incluyó cinco estudios aleatorios controlados (n=1.240 pacientes), no encontró cambios en cuanto a mortalidad, días de ventilación mecánica, cantidad de días en la unidad de cuidado intensivo o utilización de antibióticos, en comparación con cultivos semicuantitativos. Puesto que no se ha demostrado la superioridad de una técnica sobre la otra, el carácter relativamente invasivo de la broncoscopia y su requerimiento de personal y equipo especializados hacen que los aspirados endotraqueales sean el método predilecto para la toma de muestras del tracto respiratorio para estudio microbiológico. Puede haber otras indicaciones de broncoscopia, tales como la limpieza traqueobronquial, pero no hay suficientes razones para su empleo rutinario en el diagnóstico de la neumonía asociada a la ventilación mecánica.

## **Biomarcadores de neumonía asociada al ventilador**

Un biomarcador ideal de neumonía asociada a la ventilación mecánica sería una sustancia medible en el suero o en el fluido de lavado broncoalveolar (BALF) que estuviera elevada de manera confiable, o disminuida de manera sistemática en estos pacientes, que respondiera a la terapia y que no fuera alterada en pacientes críticamente enfermos sin neumonía asociada a la ventilación mecánica. La racionalidad del uso de los biomarcadores consiste en que los criterios clínicos para el diagnóstico y tratamiento de la neumonía asociada a la ventilación mecánica no son confiables, y que los biomarcadores serían útiles para facilitar el diagnóstico y tratamiento precoz. El biomarcador sérico más estudiado y prometedor es la procalcitonina.

## **Prevención**

Las modalidades actuales de prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica son: Ventilación mecánica no invasiva, posición semisentada para disminuir la Broncoaspiración, higiene oral con clorhexidina y tubos endotraqueales especializados (drenaje subglótico de secreciones).

## **Tratamiento**

En casos de neumonía asociada a la ventilación mecánica, el tratamiento antimicrobiano inadecuado o demorado es importante ya que se ha asociado con aumento de la mortalidad. Por ende, cuando se sospecha neumonía asociada a la ventilación mecánica debe iniciarse la terapia antimicrobiana empírica tan pronto como sea posible. De ser posible, deben tomarse muestras respiratorias y sanguíneas para cultivo antes de la administración de antibióticos, a fin de guiar la terapia continuada. Entre los factores que influyen sobre la elección del tratamiento empírico se encuentran, aunque no exclusivamente, los antibiogramas institucionales o específicos de cada unidad, como también los factores de riesgo propios del paciente, tales como información sobre cultivos previos o colonización, duración de la ventilación mecánica, exposición previa a otros antibióticos y gravedad de la enfermedad. Es pertinente anotar que toda antibioticoterapia empírica debería cubrir tanto microorganismos grampositivos como gramnegativos.

## ***Helicobacter pylori*: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS Y MOLECULARES**

Mayra Raciny Alemán

Bacterióloga, Magíster en Infecciones y Salud Tropical. Profesor Asistente Programa de Bacteriología – Facultad Ciencias de la Salud. Universidad de Córdoba. Montería – Córdoba.

*Helicobacter pylori* es un bacilo curvado Gram negativo, microaerófilo, de 2,5 a 5 micras con 4 a 8 flagelos unipolares (Vélez, Rojas et al., 2003). *H. pylori* inicialmente se denominó *Campylobacter pylori*, pero en 1989 se obtuvo la secuencia de su ADN y se concluyó que no pertenecía al género *Campylobacter* por lo tanto fue ubicada dentro del género *Helicobacter*. El nombre *pylori* viene del latín *pylorus*, y hace referencia al píloro (esfínter del estómago que conduce al duodeno) (Marshall, McGeachie et al., 1985). Posee algunas propiedades bioquímicas que le permiten adaptarse al medio y ayudan a su identificación, como la producción de ureasa, una enzima capaz de desdoblar la urea produciendo amoníaco para neutralizar el ácido del estómago. Produce otras enzimas como la oxidasa y la catalasa que son útiles para la identificación después de su crecimiento en medios de cultivo (Moreno, 2009).

*H. pylori* coloniza el estómago humano y persiste por varias décadas (Acosta, Quiroga et al., 2010; Marie, 2012), a menos que sea erradicada por una terapia antimicrobiana causa enfermedades como gastritis, ulcera péptica y linfoma asociado a la mucosa gástrica, y es el factor de mayor riesgo para el desarrollo de adenocarcinoma gástrico (Wang, Cheng et al., 2010). La infección por *H. pylori* es la infección más común a nivel mundial (Bures, Kopacova et al., 2012). Se estima que el 50 al 80% de la población mundial está infectada por este microorganismo (Bruce and Maaros, 2008). La prevalencia varía entre países desarrollados de aquellos en vías de desarrollo. Estudios europeos reportan tasas de prevalencia entre el 25 y el 60%, mientras que la prevalencia en Suramérica y algunas partes de Asia llegan a ser del 80% (Azevedo, Huntington et al., 2009; Ford and Axon, 2010; Goh, Chan et al., 2011). En Colombia la prevalencia de *H. pylori* es de un 70% aproximadamente en adultos (Martínez Marín and Henao Riveros, 2009). Desde el punto de vista epidemiológico se ha observado una mayor prevalencia de la infección en individuos de edad avanzada, pudiendo presentar colonización, sin embargo la prevalencia se hallaría condicionada también por otros factores además de la edad, como el factor socioeconómico, como lo demuestra el hecho de una mayor prevalencia y una más temprana colonización por el germen en países no desarrollados en relación a aquellos industrializados.

La infección por *H. pylori* se adquiere por vía oral, aunque la transmisión directa de persona a persona por vómito, saliva, o heces, predomina en países industrializados. Además, las vías de transmisión como el agua, podrían ser importantes en países en desarrollo (Suerbaum and Michetti, 2002). La bacteria puede ser transmitida de tres vías diferentes: la vía fecal-oral, la cual parece ser la

más frecuente vía de transmisión, la vía oral-oral: que se puede presentar en el caso de mujeres africanas que mastican el alimento para luego ser suministrado a sus hijos, y por último la vía iatrogénica, es la menos común y se da por el contacto de tubos o endoscopios infectados con la mucosa gástrica de personas no infectadas (Dunn, Cohen et al., 1997; Logan and Walker, 2001).

*H. pylori* produce una de las infecciones más comunes en el humano, con aproximadamente un 80% de personas infectadas en algunos países en desarrollo (Miernyk, Morris et al., 2011). Personas infectadas con *H. pylori* presentan una leve inflamación de la mucosa gástrica, pero algunas personas pueden complicarse generándose una úlcera gástrica (Demma, Holman et al., 2008). *H. pylori* posee un conjunto de factores que juegan un papel importante en el desarrollo metabólico asegurando la supervivencia en ese medio. La colonización de la bacteria es favorecida por la producción de la enzima ureasa que cataliza el rompimiento de la urea en amonio y CO<sub>2</sub> que neutraliza eficientemente el ambiente a su alrededor (Olaya, 2008). Los factores de virulencia que posee *H. pylori* son la citotoxina vacuolizante (VacA) y el islote de patogenicidad (CagA) que son los más importantes y mejores estudiados. El factor VacA es una citotoxina vacuolizante que como su nombre lo indica produce la vacuolización de las células eucariotas lo que estimula la apoptosis en células epiteliales; esta codificada por el gen VacA y todos los aislamientos de *H. pylori* portan este gen, pero no todos pueden expresar dicha toxina, debido que la expresión está determinada por variaciones en la señal de secreción. El gen posee dos regiones, la región señal (s), compuesta por tres subtipos s1a, s1b y s2, relacionados a úlceras y cáncer gástrico. La segunda región conocida como región media (m) se divide en dos alelos: el tipo m1 presente en cepas con actividad citotóxica y el tipo m2 presente en cepas con ausencia de actividad citotóxica. La proteína CagA es otro de los importantes factores de virulencia que posee *H. pylori*, esta codificada por el gen CagA y se encuentra aproximadamente en un 50% de las cepas de *H. pylori* de países de Occidente y hasta un 98% de países asiáticos. Otros factores importantes que intervienen en la invasión de la bacteria en el estómago son la movilidad que le facultan sus flagelos, su estructura que le permite ingresar a la capa de moco gástrico, presencia de adhesinas en su estructura que poseen receptores para unirse a la mucosa gástrica, entre muchos otros. (Olaya, 2008; Moreno, 2009).

La mayoría de las personas infectadas por *H. pylori* desarrollan síntomas. Las enfermedades estrechamente relacionadas con la presencia de *H. pylori* en el estómago de una persona infectada son las siguientes: dispepsia no ulcerosa, gastritis, úlcera duodenal, cáncer gástrico, úlcera gástrica. La infección por *H. pylori* también puede generar manifestaciones extra-gástricas como la rosácea, bronquiectasias, muerte súbita del lactante y la enfermedad coronaria (Vélez, Rojas et al., 2003). Bajo el nombre de dispepsia no ulcerosa se engloban un conjunto de condiciones no específicas que afectan entre el 15 y 40% de la población; se presentan algunas manifestaciones clínicas como distensión abdominal, dolor epigástrico y vómitos. En la enfermedad ulcerosa péptica *H. pylori* es su causa

principal encontrándose en el 90% de los pacientes con esta afección. La gastritis crónica inducida por *H. pylori* es reconocida como un precursor de cáncer gástrico. La persona infectada por *H. pylori* tiene de 3 a 8 veces más posibilidad de desarrollar cáncer que quien no está infectado. El linfoma gástrico es una rara entidad que afecta a 7 personas por millón de habitantes por año. En la mayoría de los pacientes con linfoma se detecta la presencia de *H. pylori* en el estómago (Vélez, Rojas et al., 2003).

La infección por *H. pylori* puede diagnosticarse con o sin endoscopia. Mientras el gastroenterólogo realiza la endoscopia puede realizarse la prueba de la ureasa, que consiste en colocar la biopsia gástrica en un medio que contiene urea, al estar presente la enzima, el color del medio cambiará revelándose la positividad de la prueba usando un indicador de pH. El cultivo de *H. pylori* es considerada la prueba menos sensible y la mayoría de veces es solamente utilizada para conocer la sensibilidad a diversos antibióticos (Velez, Rojas et al., 2003). Existen otros métodos no invasivos para diagnosticar *H. pylori* como el test de aliento o las pruebas serológicas. El test de aliento se basa en la facultad de la ureasa producida por *H. pylori* para hidrolizar una solución ingerida de urea, la cual está marcada con carbono 14 (C14) y el CO<sub>2</sub> liberado en la reacción es absorbido y viaja a través de la sangre, para finalmente ser exhalado en el aire espirado, este aire es recolectado para medir la concentración de C14 y de esta manera diagnosticar la infección (Ortiz-Olvera, Moran Villota et al., 2007). Las pruebas serológicas se fundamentan en la detección de anticuerpos séricos tipo IgG o IgA dirigidos contra antígenos de *H. pylori*. Existen algunas pruebas como las técnicas de inmunoanálisis ligado a las enzimas (ELISA), las cuales han aumentado su sensibilidad y especificidad mayor al 95% (Velez, Rojas et al., 2003). La prueba de PCR usada para el diagnóstico de la enfermedad usan gran variedad de genes, entre los cuales se tienen el gen 23S rRNA, el gen de la ureasa (*UreA*), el gen *CagA* y el gen *UreC* actualmente denominado *glmM* (Saribas, Demir et al., 2010; Espinoza, Vazquez et al., 2011). Los fármacos principalmente usados para el tratamiento de *H. pylori* son los antisecretores que disminuyen la secreción de ácido por parte del estómago (Alkim, Iscan et al., 2011), las sales de bismuto que tienen propiedades antimicrobianas, aunque en la actualidad no se conoce con exactitud su mecanismo de acción (Cheng and Hu, 2009; Alkim, Iscan et al., 2011). Otros fármacos importantes en la erradicación de *H. pylori* son los antibióticos, que depende del tipo para ejercer un mecanismo de acción, como ejemplos tenemos la amoxicilina que inhiben la síntesis de la pared celular, la claritromicina que inhibe la síntesis de proteínas del microorganismo. Otros antibióticos usados comúnmente son el metronidazol, tetraciclina, nitrofurantoina, levofloxacina, entre otras (Calvet, 2008; Moreno, 2009).

## Bibliografía

1. Acosta, N., Quiroga, A., Delgado, P., Bravo, M. M. and Jaramillo, C. (2010). Helicobacter pylori CagA protein polymorphisms and their lack of association with pathogenesis. World J Gastroenterol 16(31):3936-43.
2. Alkim, H., Iscan, M. and Oz, F. Effectiveness of ranitidine bismuth citrate and proton pump



- inhibitor based triple therapies of *Helicobacter pylori* in Turkey.
3. Libyan J Med 6. (2011).
  4. Azevedo, N. F., Huntington, J. and Goodman, K. J. The epidemiology of *Helicobacter pylori* and public health implications. *Helicobacter* 14 Suppl 1:1-7.
  5. Bures, J., Kopacova, M., Koupil, I., Seifert, B., Skodova Fendrichova, M., Spirkova, J., et al. (2012). Significant decrease in prevalence of *Helicobacter pylori* in the Czech Republic. *World J Gastroenterol* (2009). 18(32):4412-8.
  6. Bruce, M. G. and Maaros, H. I. (Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 13 Suppl. 2008. 1:1-6.
  7. Calvet, X. [Acid-related diseases. What is the current rescue treatment of choice for *Helicobacter pylori*: quadruple therapy (proton pump inhibitor, bismuth, tetracycline and metronidazole) or triple therapy with proton pump inhibitor, amoxicillin and levofloxacin?]. *Gastroenterol Hepatol* 31(6):400-1. 2008
  8. Cheng, H. and Hu, F. L. Furazolidone, amoxicillin, bismuth and rabeprazole quadruple rescue therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. *World J Gastroenterol* 2009. 15(7):860-4.
  9. Demma, L. J., Holman, R. C., Sobel, J., Yorita, K. L., Hennessy, T. W., Paisano, E. L., et al. Epidemiology of hospitalizations associated with ulcers, gastric cancers, and *Helicobacter pylori* infection among American Indian and Alaska Native persons. *Am J Trop Med Hyg* . 2008. 78(5):811-8.
  10. Dunn, B. E., Cohen, H. and Blaser, M. J. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 10(4): (1997). 720-41.
  11. Espinoza, M. G., Vazquez, R. G., Mendez, I. M., Vargas, C. R. and Cerezo, S. G. Detection of the glmM gene in *Helicobacter pylori* isolates with a novel primer by PCR. *J Clin Microbiol* (2011). 49(4):1650-2.
  12. Ford, A. C. and Axon, A. T. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter* 15 Suppl (2010). 1:1-6.
  13. Goh, K. L., Chan, W. K., Shiota, S. and Yamaoka, Y. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter* 16 Suppl 1:1-9. Logan, R. P. H. and Walker, M. M. (2001). Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ*. 2011. 323(7318):920-2.
  14. Marie, M. A. Relationship between *Helicobacter pylori* virulence genes and clinical outcomes in Saudi patients. *J Korean Med Sci* 27(2):190-3.
  15. Marshall, B. J., McGeachie, D. B., Rogers, P. A. and Glancy, R. J. (1985). Pyloric *Campylobacter* infection and gastroduodenal disease. *Med J Aust* . 2012. 142(8): (439-44.
  16. Martínez Marín, J. D. and Henao Riveros, S. C. Hiperplasia linfocitaria folicular gástrica e infección por *Helicobacter pylori* en adultos colombianos. *Revista Colombiana de Gastroenterología* 2009. 24:148-56.
  17. Miernyk, K., Morris, J., Bruden, D., McMahon, B., Hurlburt, D., Sacco, F., et al. (Characterization of *Helicobacter pylori* cagA and vacA genotypes among Alaskans and their correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol* .2011. 49(9):3114-21.
  19. Moreno, S. Mecanismos de resistencia de *Helicobacter pylori* a los antibióticos amoxicilina, claritromicina, levofloxacina y metronidazol [tesis]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 2009.
  20. Olaya, S. Comparación entre una técnica estandarizada de PCR en tiempo real y PCR convencional para la detección del gen CagA, de *Helicobacter pylori*.
  21. [tesis]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 2008.
  22. Ortiz-Olvera, N. X., Moran Villota, S., Gallardo Wong, I., Blancas Valencia, J. M. and Cabrera Muñoz, L.. Validation of a simplified 13C-urea breath test method for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Rev Esp Enferm Dig*. 2007. 99(7):392-7.
  23. Saribas, Z., Demir, H., Saltik Temizel, I. N., Simsek, H., Ozen, H. and Akyon, Y. [Detection of cagA prevalence in clinical isolates of *Helicobacter pylori*].
  24. *Mikrobiyol Bul* 2010. 44(3):461-5.
  25. Suerbaum, S. and Michetti, P. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*

347(15):1175-86.

26. Velez, H., Rojas, W., Borrero, J. and Restrepo, J. Fundamentos de medicina: enfermedades infecciosas. Sexta ed. Medellin, Colombia: Editorial CIB. 2003.
27. Wang, L. H., Cheng, H., Hu, F. L. and Li, J. Distribution of gyrA mutations in fluoroquinolone-resistant Helicobacter pylori strains. World J Gastroenterol .2010. 16(18):2272-7.

## ANAEROBIOS RETOS Y REALIDADES EN EL LABORATORIO EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Fabio A. Restrepo Restrepo

MD, Patólogo. Microbiólogo Laboratorista, Especialista en Salud Pública

Si le preguntáramos a un Laboratorista clínico porque cree que los laboratorios actualmente en Colombia no realizan estudio de rutina para anaerobios, podríamos encontrar respuestas como estas: Los anaerobios son muy sensibles y no se necesita; los anaerobios son muy exigentes y su estudio en los laboratorios es muy tedioso; requieren de equipos especiales como cámaras de anaerobiosis y otros elementos costosos como los generadores de anaerobiosis; los anaerobios son muy lentos para crecer y sus resultados no son oportunos, los médicos no solicitan su estudio como si lo hacen con los aerobios y otros microorganismos, no se tiene experiencia en los procedimientos para realizarlo..... entre otras respuestas posibles, todas ciertas, valederas y entendibles, pero ya no para la realidad actual, tal vez para años anteriores donde se perdió el interés por su estudio; porque sin duda en el pasado se sobredimensiono su importancia, y su conocimiento previo permitió establecer terapias empíricas exitosas y quimioprofilaxis en el paciente quirúrgico, sumado a que, su estudio era tedioso y hasta desesperante cuando se intentaba llegar a un diagnóstico de especie; pero no sería lógico pensar que los laboratorios actuales con los avances que tenemos en identificación, automatización y conocimiento del comportamiento de los anaerobios, no trabajemos para aportarle al médico y en especial a los pacientes la oportunidad de conocer el origen de este tipo de infecciones, los MO (microorganismos) comprometidos en cada caso y aportar al adecuado manejo terapéutico con los antibióticos más indicados.

A 150 años de la descripción de las bacterias anaerobias, por su prevalencia actual puede considerarse como la emergencia o reemergencia de algunas especies y de cuadros clínicos, debido a que algunos anaerobios de la microbiota que no se habían aislado de infecciones humanas ahora sí se han aislado en algún cuadros clínicos, ciertos anaerobios se han relacionado con síndromes infecciosos establecidos confirmando su participación directa, ha aumentado la virulencia de algunas cepas, y la resistencia a los antibióticos viene en claro aumento con un reordenamiento de sus patrones, el cual por si solo amerita que hoy por hoy se realice el estudio de anaerobios hasta especie y su comportamiento de resistencia, lo que permitiría tener a nivel institucional, o al menos a nivel regional, los patrones actualizados de sensibilidad a los antibióticos de los MO anaerobios.

Alrededor del 5% de los casos de bacteriemia son causados sólo por bacterias anaerobias (la más común es *B. fragilis*), o en conjunto con aerobias. El origen suele ser el intestino, el aparato genital femenino, el aparato respiratorio, tejidos blandos o la cavidad oral. Durante el 2010-2012 se han descrito por primera vez algunas especies involucradas en diferentes cuadros clínicos tales como: bacteriemias (*Bacteroides pyogenes*), carcinoma recto sigmoideo diseminado (*Gordonibacter pamelaee*), en infección intraabdominal (*Parabacteroides goldsteinii*), en infecciones de heridas (*Parabacteroides merdae*), en una enterocolitis de un paciente neutropénico (*Clostridium chauvoei*) y el incremento de *Fusobacterium necrophorum*, particularmente en el síndrome de Lemierre. En cabeza y cuello, un absceso dental, la peridontitis o gingivitis necrotizante pueden promover una infección grave. Los anaerobios predominantes son *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella melaninogenica*. Los abscesos faríngeos pueden provocar tromboflebitis supurada de la vena yugular o el síndrome de Lemierre (bacteriemia y émbolos sépticos pulmonares, cerebrales y cardíacos); en este caso, la causa común es *F. necrophorum*, de incidencia creciente. Las otitis o sinusitis son infecciones mixtas en las que los principales anaerobios involucrados son miembros del género *Bacteroides*. En los abscesos cerebrales predominan *Fusobacterium*, *Bacteroides* y cocos GP anaerobios (GPAC); pueden surgir de diseminación hematogena a partir de focos óticos, sinusales o dentales. Las infecciones pulmonares suelen seguir a la aspiración de material orofaríngeo o aparecer como complicación de una enfermedad periodontal; los gérmenes más frecuentes son *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus* spp. Las bacterias anaerobias de la flora vaginal que participan en infecciones ginecológicas y posoperatorias (generalmente mixtas), son *B. fragilis*, *P. bivia*, *P. disiens*, *P. melaninogenica*, *peptostreptococos* y *Clostridium* spp. La vaginosis bacteriana es causada por anaerobios y *Gardnerella vaginalis*. Las infecciones por anaerobios de la piel y tejidos blandos usualmente obedecen a contaminación con materia fecal o contenido de la cavidad oral. La úlcera de pie diabético es una forma específica de infección cutánea, en la que la participación de los anaerobios es en conjunto con la presencia de isquemia. Su presencia se detecta con muestras subyacentes a la superficie de la herida. Las infecciones cutáneas por una mordedura humana o animal involucran los anaerobios de la cavidad oral, entre los que son más frecuentes *Prevotella heparinolytica*, *Bacteroides pyogenes*, *B. tectus* y especies animales de *Porphyromonas*. Los anaerobios también pueden hallarse en la fasciitis necrotizante junto con *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* spp y *Clostridium*. Las infecciones óseas por anaerobios son raras, pero pueden provenir de tejidos blandos adyacentes; los anaerobios GN más frecuentes son los del género *Fusobacterium*. El efecto adverso más frecuente del tratamiento con ATB es la diarrea; entre ellas, la más grave es la debida a *Clostridium difficile*. Asimismo se debe considerar otras infecciones como meningitis, endocarditis y artritis séptica. Los géneros bacterianos que se aíslan con mayor frecuencia comprenden: los bacilos Gram negativos como *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp.; los cocos Gram.

Entre los factores de virulencia de las bacterias anaerobias se pueden incluir: el lipopolisacárido capsular, el cual promueve la formación de abscesos y resistencia a la opsonización y fagocitosis; endotoxinas; metabolitos secundarios, como ácidos grasos de cadena corta y ácido succínico que inhibe la fagocitosis y causa destrucción tisular; la enzima superóxido dismutasa que favorece la aerotolerancia y reduce los radicales superóxido producidos por los polimorfonucleares; las exotoxinas y exoenzimas, como las hemolisinas, leucocidinas, heparinasa, colagenasas, fibrinolisin, ADN-ARNasas, neuraminidasas y hialuronidasas, las cuales promueven la invasión tisular y causan inflamación, necrosis y supuración. En algunas otras se han observado porinas, proteína S y proteína L que poseen la propiedad de unirse inespecíficamente a Inmunoglobulinas (Igs) facilitando la invasión de mucosas. Sin embargo, en muchas de ellas se desconocen los factores de virulencia.

El problema de la resistencia: La resistencia de las bacterias anaerobias a los antimicrobianos es creciente y puede ocasionar problemas terapéuticos de difícil abordaje. La situación es variable geográficamente y afecta de forma diferente a los distintos microorganismos que presentan este tipo de metabolismo. Las especies de *Bacteroides* y *Parabacteroides* que formaban el «grupo fragilis» son las más problemáticas. El incremento de resistencia de los componentes de estos géneros se comprueba nítidamente en estudios recientes que han analizado numerosas cepas pertenecientes a diversos periodos de tiempo, como los multicéntricos realizados en Europa y en Estados Unidos o los realizados en algunos hospitales españoles. El porcentaje de cepas resistentes a cefoxitina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y moxifloxacino hace que estos fármacos no deban ser utilizados en terapia empírica. La piperacilina con tazobactam y los carbapenem siguen manteniendo muy buena actividad, y la resistencia a los últimos también es creciente. La actividad de tigeciclina es inferior a la de carbapenem. La resistencia a metronidazol sigue siendo puntual. En España se ha comunicado la existencia de cepas resistentes tanto a carbapenem como a metronidazol. La resistencia a los carbapenem se ha asociado a una carbapenemasa codificada por los genes *cfiA* activados por segmentos de inserción (IS) situados aguas arriba, pero se han descrito cepas que no presentan IS o genes *cfiA*, y en este caso se ha señalado que en la resistencia intervendrían alteraciones en la permeabilidad, en las porinas o bombas de expulsión. La resistencia a metronidazol puede deberse a una nitroimidazol reductasa codificada por los genes *nim*, cromosómicos o plasmídicos, a una reducción de la captación, a la actividad de la nitrorreductasa y de la piruvato-ferredoxin oxidoreductasa, al aumento de la actividad de lactato deshidrogenasa o a mutaciones que alteran la utilización de hidratos de carbono que afectan al potencial redox. La existencia de cepas de *Bacteroides* spp., multirresistentes es un hecho desde hace años y su impacto en un futuro está por determinar. En Europa, desde 1995 se han comunicado *B. fragilis*, un *B. vulgatus* y un *P. distasonis*, aislados de sangre (una), sangre y exudados purulentos y abscesos y heridas. Al menos 5 pacientes fallecieron. En

Estados Unidos también se han aislado cepas multirresistentes, un *B. fragilis* de sangre y otro de herida y sangre. La multirresistencia se debe a la suma de mecanismos de resistencia codificados tanto por el cromosoma como por elementos móviles. Los datos de sensibilidad de otras bacterias anaerobias son menores pero los estudios han constatado un incremento de resistencia a clindamicina y amoxicilina-ácido clavulánico en *Fusobacterium* spp. y *Prevotella* spp., y a clindamicina en cocos anaerobios. La resistencia y sensibilidad disminuida a metronidazol en *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp y *Porphyromonas* spp, es un hecho, y su importancia local requiere la realización de estudios sistemáticos de sensibilidad. *Finegoldia magna* también presenta resistencia a penicilina y clindamicina. Los anaerobios han ido aumentando su resistencia a los antimicrobianos, y la aparición de la resistencia a carbapenem y metronidazol y la mutirresistencia son ya una realidad. En esta última situación linezolid puede ser una buena alternativa en *Bacteroides*. Fidaxomicina es el único antianaerobio introducido en los últimos años, en concreto para la diarrea por *C. difficile*.

### **Consideraciones microbiológicas: identificación**

Para la identificación de este grupo de bacterias se debe considerar tres aspectos importantes: el sitio anatómico de la infección, la selección y la toma de muestra, así como el transporte de la misma. Para la toma de muestra no es recomendable el uso de hisopos ya que puede haber reducción del número de bacterias debido a la falta de humedad, exposición al oxígeno y adherencia a las fibras de algodón, sólo se recomienda su uso en infecciones de superficies mucocutáneas, previa descontaminación de la superficie de la lesión. Es importante que la muestra se tome de un sitio profundo (aspirado) donde la posibilidad de contaminación por microorganismos de la microbiota normal sea mínima. Se consideran muestras inadecuadas las que provienen de las superficies mucosas ya que es difícil diferenciar si el agente causal aislado es un comensal o es el patógeno. El transporte de las muestras es un paso crítico para el aislamiento de bacterias anaerobias ya que se sabe que éstas pueden verse afectadas por la exposición al oxígeno, por la pérdida de la humedad o cuando se guardan en refrigeración, por otro lado, si la muestra permanece a temperatura ambiente puede haber multiplicación de otras bacterias acompañantes. Lo ideal es tomar la muestra y sembrarla de inmediato, de lo contrario, es conveniente utilizar un medio de transporte con baja tensión de oxígeno y un indicador de óxido reducción. Se pueden usar también tubos, botellas o frascos con tapón de caucho a los cuales se les haya eliminado el aire por medio de una bomba de vacío y si es posible, el vacío puede reemplazarse por nitrógeno y bióxido de carbono. Para la siembra de la muestra es necesario tomar en cuenta que los medios de cultivo sólidos sean de reciente preparación, que los medios líquidos se mantengan a temperatura ambiente y no en refrigeración (o bien, en anaerobiosis). La siembra se realiza con pipetas de vidrio estériles de punta larga (también conocidas como pipetas Pasteur) depositando unas gotas de la muestra sobre cada una los medios de cultivo que se van a sembrar, en el caso de los medios líquidos, se sigue el mismo procedimiento,

sin embargo, la punta de la pipeta debe sumergirse hasta el fondo del tubo y se deposita el inóculo procurando no introducir burbujas. Los medios de cultivo sólido que se usan para el aislamiento primario de las bacterias anaerobias a partir de una muestra clínica pueden ser base de Agar Columbia, Agar Brucella, Agar Infusión Cerebro Corazón, suplementados con Hemina-Menadiona (vitamina K) al 1% y sangre de carnero al 5%. A los medios mencionados se les puede adicionar antibióticos u otras sustancias como alcohol fenil étílico o azida de sodio por mencionar algunos para hacerlos selectivos. El procesamiento de las muestras debe ser rápido e ir acompañado de una tinción de Gram ya que a partir de ésta se puede tener una visión general de cuáles medios de cultivo utilizar, los medios enriquecidos son esenciales e importantes para tener éxito en el aislamiento, los medios selectivos se adicionan a la marcha de trabajo o se usan cuando se trata de una infección mixta, mientras que los diferenciales permiten un diagnóstico presuntivo rápido. Los cultivos anaeróbicos se incuban por al menos 48 horas y no deben descartarse hasta las 96 horas, por lo general, la temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 35-37°C. Es importante recalcar que es imprescindible hacer la prueba de aerotolerancia para confirmar que se trata de una bacteria anaerobia obligada para luego iniciar con la identificación. Este procedimiento consiste en sembrar por triplicado cada muestra en los diferentes medios de cultivo para que una de ellas se incuba en condiciones de aerobiosis, otra en tensión de CO<sub>2</sub> y la última en condiciones anaeróbicas. La identificación puede realizarse por distintos métodos, el clásico y que se encuentra al alcance de la mayoría de los laboratorios de microbiología son las pruebas bioquímicas tradicionales o enzimáticas. Desde las pruebas en tubo (base caldo tioglicolato sin dextrosa) o las placas de Lombard-Dowell adicionado de los carbohidratos o aminoácidos al 1%, pasando por los métodos miniaturizados y hasta los métodos automatizados pueden utilizarse en la identificación bioquímica de los géneros de bacterias anaerobios obligadas, muchas de estas pruebas de identificación son lentas tanto por la inactividad bioquímica de muchas especies como por la dificultad y lentitud de crecimiento, además solo llegan a nivel de género y unas pocas a nivel de especie. No obstante, existen otros métodos de identificación, como el perfil de ácidos grasos o metabolitos generados por cada especie, estas determinaciones a menudo se realizan solo para el área de investigación ya que se utiliza la cromatografía de gas líquido y no es tan accesible para la mayoría de los laboratorios clínicos. Las técnicas de biología molecular, en particular el análisis del gen 16SARNr, se han utilizado para la identificación de las especies de este grupo bacteriano considerándose actualmente el estándar de oro en algunos países europeos, así como la búsqueda de genes específicos de especie o toxintipo, como es el caso del gen *cpe* para las cepas productoras de la toxina CPE de *Clostridium perfringens*, o los genes *tcdA* y *tcdB* que codifican para las toxinas A y B, respectivamente, ambas responsables de la patogenicidad de *C. Difficile*. En la actualidad, uno de los desarrollos más importantes en el diagnóstico es el uso de la genómica que puede detectar a las bacterias anaerobias directamente en muestras clínicas, lo que permite no solo acortar el tiempo del diagnóstico sino también detectar elementos no viables o no cultivables. La generalización del MALDI-TOF

ha supuesto una reducción de tiempo y un abaratamiento en la identificación que mejora día a día según se optimizan las bases de datos. La aplicación de la PCR en tiempo real ha sido otro gran avance, y la secuenciación del ARNr 16S y otros genes es ya una realidad para muchos laboratorios.

Es por todo lo anterior que los laboratorios clínicos que no cuentan con métodos de trabajo para anaerobios hagan esfuerzos encaminados a implementar estas técnicas y tecnologías para realizar la identificación y pruebas de sensibilidad y realizar estudios integrales para identificar a todos los microorganismos presentes en el material clínico.

## **CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL (VALIDACIÓN Y CUALIFICACIÓN DE SALAS DE AMBIENTE CONTROLADO EN HOSPITALES)**

Harold Durango Galván  
Bacteriólogo, Especialista en Micología Médica.

El control del ambiente interior en hospitales se considera esencial para la seguridad del paciente, siendo de crucial importancia en quirófanos, esterilización y zonas de ambientes controlados. La contaminación del aire en las áreas de riesgo hospitalarias es un problema potencial derivado de la posibilidad de que los contaminantes sean transportados y eventualmente depositados sobre las superficies, los materiales o las personas que queremos proteger. Con el fin de prevenir posibles infecciones transmitidas por el aire y asociadas al cuidado de la salud, se deben hacer mediciones y comprobaciones periódicas que cobran especial relevancia para verificar la bioseguridad de las instalaciones. Las herramientas de que disponemos para evitar las posibles consecuencias de esta contaminación del aire se pueden clasificar en dos grupos: aquellas destinadas a impedir la entrada de los contaminantes en el local a proteger (acondicionamiento y limpieza del aire, flujos y presiones) y las destinadas a eliminar los contaminantes generados por la actividad desarrollada en el mismo (renovaciones de aire, limpieza/desinfección, disciplina del personal). La actividad humana es una fuente potencial de contaminación ambiental, se considera que una persona proyecta y libera a la atmósfera entre 1000 y 10000 bacterias por minuto, con grandes variaciones en función de determinadas condiciones (tipo de ropa, higiene de la piel, entre otros) y de su actividad; por ello se considera que el personal y el paciente son la principal fuente de microorganismos encontrados en el aire.

El riesgo de infección ligado al aire interior de los hospitales se asocia a diversos factores, entre los que se encuentran la tasa de concentración de partículas infecciosas en el ambiente, el tiempo suficiente de exposición a las mismas, y un sistema inmunológico comprometido. El concepto de ambiente controlado implica la adopción de una serie de mecanismos que nos permiten garantizar la calidad

interior del aire de la sala o zona así considerada y corregir sus desviaciones cuando estas se produzcan.

Hasta hace pocos años, la normativa aplicable a los requisitos de bioseguridad ambiental exigible a las zonas de alto riesgo de los hospitales habían sido poco explícitas y con importantes lagunas, aunque en los últimos años las fuentes documentales sobre la calidad del aire interior han aumentado de forma importante. En muchos casos se aplicaban criterios poco definidos, basados en la legislación existente para la ventilación de edificios de uso público o en guías desarrolladas específicamente para el diseño de quirófanos, así como en recomendaciones de sociedades científicas u organismos nacionales e internacionales como el INSHT (Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo), o la ASHRAE (International technical society organized to advance the arts and sciences of heating, ventilation, air-conditioning and refrigeration), AIA (American institute of architects ) y los CDC de EEUU. Hoy día la calidad de ambientes en hospitales está apoyada principalmente en las siguientes normas de referencia:

- UNE-EN-ISO 14644-1:2000 Salas limpias y locales anexos. Clasificación de la limpieza del aire.
- UNE-EN-ISO 14644-2:2001 Salas limpias y locales anexos controlados. Especificaciones para los ensayos y verificación del cumplimiento continuo para la Norma 14644-1.
- UNE-EN-ISO 14698-1:2004 Salas limpias y ambientes controlados asociados. Control de la biocontaminación.
- UNE-EN-ISO 14698-2:2006 Salas limpias y ambientes controlados asociados. Control de la biocontaminación. Evaluación e interpretación de los datos de biocontaminación.
- UNE 100713:2005 Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales.
- UNE 100012:2005. Higienización de sistemas de climatización.
- UNE 171340 Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales.

El concepto de “áreas críticas” o “áreas de alto riesgo” semánticamente alude a la descripción de una situación real, basada en las características de los pacientes o de las actividades que en ellas se desarrollan, mientras que el de “ambiente controlado” obedece a un propósito o disposición teórica para hacer lo que se debería en las condiciones ideales mediante la aplicación de conocimientos, técnicas y equipamientos necesarios para prevenir la exposición del personal y pacientes a agentes potencialmente infecciosos o considerados de riesgo biológico en determinadas áreas. En función de las exigencias con respecto a la presencia de gérmenes en el aire impulsado y en el ambiente, las zonas del hospital pueden clasificarse en dos tipos de locales (según norma UNE 100713:2005): Local de Clase I (con exigencias muy elevadas, tres niveles de filtración prefiltro F5, filtro F9 y HEPA H13) y local de Clase II (con exigencias habituales, dos niveles de filtración prefiltro F5 y filtro F9).



En cuanto a las necesidades de calidad del aire en el interior de los quirófanos, clásicamente se ha utilizado para su clasificación la norma UNE-EN-ISO 14644, sobre salas limpias, estableciéndose tres categorías:

1. Quirófanos tipo A: ISO 5-6: Quirófanos de alta tecnología.
2. Quirófanos tipo B: ISO 7: Quirófanos convencionales.
3. Quirófanos tipo C: ISO 8: Quirófano de cirugía ambulatoria.

Según la norma UNE 171340-2012 son salas de ambiente controlado en hospitales aquellas que cuentan con las estructuras e instalaciones específicas para controlar la biocontaminación y los parámetros ambientales adecuados. Es requisito indispensable, para su clasificación y validación en referencia a esta normativa, que sean “locales de clase I”, y por ello se les exige una adecuada limpieza del aire, a través de un diseño con tres niveles de filtración y unos parámetros físicos de rangos definidos y controlables (temperatura, humedad relativa, presión diferencial, caudal de impulsión, tasa de renovaciones por hora, tasa de recuperación-cinética de descontaminación, y volumen de aire exterior).

### **Clasificación de las áreas hospitalarias en función de riesgo:**

La norma UNE 171340:2012 clasifica las áreas hospitalarias en función del riesgo y el tipo de ventilación/filtración asociado en:

1. Áreas de muy alto riesgo: Tres niveles de filtración (incluido HEPA) y flujo unidireccional.
2. Áreas de alto riesgo: Tres niveles de filtración (incluido HEPA). Establece cuatro diferenciaciones: con flujo mezcla, con flujo mezcla turbulento, salas en sobrepresión y salas en depresión.
3. Áreas de riesgo intermedio: Con requisitos medios de filtración (Sin HEPA terminal).

### **Estándares microbiológicos de calidad ambiental y criterios de valoración de resultados:**

Actualmente no existe ninguna norma de obligado cumplimiento sobre valores límites de biocontaminantes en el ambiente interior controlado. Algunos organismos como la ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) indican la dificultad de establecer criterios numéricos de valoración de biocontaminantes en el ambiente. Entre las limitaciones para determinar valores umbrales o límites de calidad microbiológica del aire se encuentran:

- Las mezclas de los contaminantes ambientales producidos biológicamente son ubicuos en la naturaleza y pueden modificarse por la actividad humana.
- Las respuestas de los humanos a los bioaerosoles varían desde efectos inocuos hasta enfermedades graves, dependiendo del agente específico y los factores de susceptibilidad de cada persona.

- Las concentraciones medidas de los bioaerosoles cultivables y contables dependen del método de toma de muestra y de la detección y análisis de los distintos componentes del bioaerosol. No es posible recoger y evaluar todos los componentes de los bioaerosoles utilizando un único método de muestreo. Los muestreadores de aire más comúnmente utilizados toman muestras puntuales en períodos cortos de tiempo y estas muestras aisladas pueden no representar la exposición humana.
- Unos patógenos inhiben el crecimiento de otros.
- Los microorganismos no solo se encuentran dispersos al azar, heterogéneamente, sino que además se concentran abundantemente en clusters o microcolonias alrededor de partículas de materia orgánica o inorgánica (polvo) y rodeados de vacíos, es decir, los bioaerosoles son mezclas complejas de diferentes clases de partículas.

### **Parámetros ambientales y de instalación en la validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales**

1. Parámetros ambientales:
  - a. Temperatura y humedad relativa.
  - b. Microbiología.
  - c. Clasificación salas de ambiente controlado.
  - d. Ruido.
2. Parámetros de instalación:
  - a. Presión diferencial.
  - b. Validación colocación de filtro absoluto:
    - i. Mediante contador de partículas.
    - ii. Mediante test de DOP.
  - c. Caudales y renovaciones /h:
    - i. Mediante balómetro.
    - ii. Mediante anemómetro de aspas/hélice.
  - d. Sentido del flujo aire.
  - e. Recuperación de la sala.

### **Bibliografía**

1. Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices. U.S. Department of Health and Human Services Atlanta, GA 30333(2003) Internet. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5210a1.htm>. Consultado 26/08/2015.
2. Recomendaciones para la Vigilancia, Prevención y Control de Infecciones en Hospitales en Obras. Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene y el INSALUD. Madrid, 21 de marzo del 2000. Internet. Disponible en: <http://www.sempsph.com/es/>. Consultado 26/08/2015.
3. UNE 100713:2005. Instalaciones de acondicionamiento de aire en hospitales. AENOR.
4. EN-ISO 14644-1:2000. Salas limpias y locales controlados.
5. UNE 171340:2012. Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales. AENOR.
6. UNE 171330-2:2009. Calidad ambiental en interiores. Parte 2: Procedimientos de inspección de calidad ambiental interior. AENOR.

## ***Pseudomonas aeruginosa*, EVIDENCIA DE EVOLUCIÓN BACTERIANA VERSUS DIAGNÓSTICO MOLECULAR**

Doris Gómez Camargo, Margarita M. Ochoa-Díaz

Grupo de Investigación UNIMOL, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena  
degomez@hotmail.com

### **Justificación**

*Pseudomonas aeruginosa* (2) es una bacteria cosmopolita, crece con facilidad en cualquier medio, es una de las responsables de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), al igual que de las complicaciones de pacientes quemados, con infecciones asociadas a dispositivos (catéter, sonda vesical, ventilación mecánica, etc.), post-quirúrgicos, o con exacerbaciones infecciosas bastante frecuentes en los pacientes con fibrosis quística (FQ). Su cada vez más frecuente perfil de resistencia es soportado en los diferentes informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), lo cual hace que hablar y estudiar esta bacteria cobre cada vez más importancia; y el conocer su comportamiento, mecanismos de resistencia y pruebas moleculares para su diagnóstico nos brinde herramientas para abordar los diferentes enfoques terapéuticos disponibles y prevenir complicaciones derivadas de las cepas multi-drogo o pan-resistentes.

### **Objetivo**

Conocer acerca de los avances en el conocimiento de *Pseudomonas aeruginosa* y su abordaje.

### **Introducción**

La *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria Gram negativa, oportunista porque aprovecha las condiciones del huésped (planta, animal y humano), para colonizar, diseminarse y causar infección.

El género *Pseudomonas* viene del griego “*Pseudos*” que significa falso y “*monas*” que significa unidad; en cuanto a la palabra *aeruginosa* se debe al color cobrizo que se observa, y se atribuye a sus pigmentos, verde, (pioverdina) y azul rojizo, (piocianina). Pertenece al dominio *Archaea*, presenta también un olor muy característico semejante a uvas fermentadas, creciendo en todos los ambientes aeróbicos y aún en anaerobiosis. Puede proliferar en temperaturas desde 25°C hasta 42°C inclusive, y no tiene esporas. Adicionalmente posee fimbrias o *pili* que facilitan su movilidad llegando a tener de 1-3 flagelos (3)

Esta bacteria ha demostrado que puede crecer en aguas estancadas pero se ha encontrado en un 5% de aguas limpias, en un 27% en materia fecal de seres

humanos sintomáticamente normales, animales y plantas, aire y cualquier material en descomposición, facilitando su fácil entrada en cualquier huésped. (4)

Esta bacteria tiene de 0.5µm a 0.8µm de ancho por 1.5µm a 3.8µm de largo posee una membrana externa, en donde se encuentran las proteínas de membrana que tienen importancia para el metabolismo celular (2).

Este microorganismo presenta genes que producen un polisacárido extracelular que es responsable de las cepas mucoides lo cual le ayuda a evitar la fagocitosis, dicha estructura evita el paso de nutrientes y de algunos antibióticos.

La *Pseudomonas aeruginosa* es oxidasa positiva y catalasa positiva, puede crecer en cualquier tipo de agar pero para su identificación se emplea el agar Cetrimide. Es un no fermentador de la lactosa utilizando la glucosa como fuente de carbono (2)

Los factores de virulencia más relevantes son varios: a) estructurales: cápsula exopolisacárida, adhesinas, endotoxinas, pigmentos difusibles, pilis, capacidad de formar biopelículas; b) tóxicos: (exotoxinas A, S y T); c) enzimáticos (fosfolipasa C, elastasa, ramnolípido, proteasa alcalina); esto facilita la patogenicidad de esta bacteria. La respuesta innata del huésped hace que un factor de virulencia desempeñe un papel más o menos preponderante en la infección y el paciente se complique (5).

La *Pseudomonas aeruginosa*, que en adelante llamaremos (Pa) (7), es altamente resistente a detergentes, antibióticos, metales pesados, solventes orgánicos (por esto es usada para degradar derivados del petróleo, biotecnología); presenta una resistencia natural o intrínseca a familias de antibióticos, asimismo, una capacidad de desarrollar mutaciones que la hacen resistente o por transferencia horizontal de otros microorganismos.

La resistencia a fármacos es evolutiva, desde que apareció la penicilina, las enfermedades infecciosas han cobrado importancia y por lo tanto cada vez más se hace necesario contrarrestar los gérmenes que son altamente resistentes y pueden causar mortalidad en los pacientes; Pa, es uno de estos microorganismos. La multirresistencia, se describe como la capacidad que tiene la bacteria de no presentar sensibilidad a 1 o más antibióticos dentro de tres categorías antimicrobianas y Pa posee la capacidad de presentar dicha resistencia con bastante frecuencia (5)

La principal acción de los antibióticos sobre las bacterias son: inhibición de la síntesis de la pared celular, alteración de la membrana citoplasmática, inhibición de la síntesis proteica, alteración de metabolismo y estructura de los ácidos nucleicos, bloqueo de la síntesis de factores metabólicos y bloqueo de los mecanismos de resistencia (inhibidores de betalactamasas), para defenderse de

esto la bacteria presenta sus mecanismos de resistencia. La Pa, presenta mecanismos de resistencia adquiridos de bacterias de la misma especie o de otro género bacteriano estos son: a) inactivación enzimática del antibiótico, b) modificación o hiperproducción de la diana de acción, c) síntesis de una diana alternativa, d) expulsión del antibiótico, esto se presenta por alteración de la permeabilidad de la membrana (6)

Se pueden presentar en una misma infección dos tipos de resistencia y eso complica más la morbimortalidad de la enfermedad. ¿Qué se puede hacer cuando esto se manifieste para ayudar al paciente?:

1. Cultivar: nunca el Gold Standard (estándar de oro), deja de ser, hacer una buena identificación rápida, segura. En muchos casos se tiene cierto miedo de reportar Pa. porque esta se encuentra en todo el medio ambiente y creemos que van a rechazar el diagnóstico.
2. Hacer una excelente prueba de susceptibilidad con MIC: también es rápida, con los nuevos adelantos tecnológicos ya se pueden dar resultados en horas.
3. Se puede hacer Filogenia Molecular para ver de dónde viene o procede la bacteria que sospechamos en el paciente.
4. Electroforesis en campus pulsados (PFGE) nos permite identificar género especie y cepas.
5. PCR RAPD (Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico *Random Amplified Polymorphic DNA*), nos permite identificar género, especie y cepa.
6. Polimorfismos de nucleótido simple (SNP), nos permite identificar mutaciones, en caso de resistencia.
7. Identificación de genes por secuenciación de ácidos nucleicos o proteínas, nos permite identificar mutaciones implicadas en biopelículas.
8. *Microarrays*, análisis de la expresión y variabilidad genética de la bacteria.
9. Modelos animales para evaluar nuevos fármacos y patogenicidad.

En nuestro Grupo de investigación UNIMOL hemos trabajado en *Pseudomonas aeruginosa* desde el año 1993, apoyando el diagnóstico y manejo de los pacientes con Fibrosis Quística en Cartagena, Colombia (8, 9), lo cual se materializó académicamente en el año 1995 cuando se dio inicio a la tesis de la Dra. Gómez Camargo, pretendiendo dar respuesta a los problemas que este microorganismo generaba en los niños con Fibrosis Quística, titulado: "Caracterización Molecular de Pa, multirresistentes y su implicación en el laboratorio clínico".

Lo planteado de ese trabajo, se constituyó en punto de partida para una línea de investigación en microbiología, resistencia y búsqueda de nuevas dianas terapéuticas y tecnologías diagnósticas rápidas, accesibles y efectivas para combatir las infecciones por Pa., no solo en pacientes con FQ, sino también, hoy día apoyando a las instituciones de salud y Unidades de Cuidado Intensivo de la ciudad y la región en el control de las IAAS.

Para lo anterior, se ha constituido un grupo de trabajo que cuenta con profesionales en el área de la Microbiología, Medicina, Biología Molecular, Química, Enfermedades Infecciosas y Cuidado Crítico que en conjunto trabajan para la consecución de nuevos mecanismos terapéuticos en el control de este patógeno. Con esto se consigue la preparación de nuevo capital humano (profesionales, magísteres, doctores) que puedan apoyar los servicios asistenciales y la investigación en este campo.

Es así como numerosos trabajos de investigación se han adelantado en el marco del estudio de estas infecciones, con tesis de maestría que buscan identificar polimorfismos y patrones de resistencia de ésta bacteria (7, 10, 11), nuevos fármacos que combatan cepas multi-drogo y panresistentes (12, 13) y la caracterización de esta y otras bacterias que cobran día a día vidas como consecuencia de la colonización de dispositivos médicos, hemos trabajado en dos tesis en busca de mutaciones puntuales, hemos secuenciado fragmentos, seguimos avanzando en interacción de proteínas, tenemos buenos resultados y esperamos respuestas que ayuden y apoyen a nuestros pacientes (14, 15).

Con este trabajo, se ha recorrido un camino en el que hoy nos encontramos con *Pseudomonas* cada vez más agresivas cuya evolución las hace cada vez más letales, convirtiéndose en un problema en salud pública que requiere de tecnología de punta, siendo el diagnóstico molecular una herramienta muy útil para su identificación.

## Referencias

1. Breidenstein EB, de la Fuente-Nunez C, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*. 2011; 19(8):419- 26.
2. Valles J, Mariscal D. [Pneumonia due to *Pseudomonas aeruginosa*]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2005; 23 Suppl 3:30-6.
3. L. Martínez Martínez LGG, J Garau Alemany. Infecciones por *Pseudomonas*. *Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2. España: SEIMC; 2006. p. 349-56.
4. Sara A. Ochoa FLp-M, Gerardo Escalona, Ariadna Cruz-Córdova,, Leticia
5. B. Dávila BLp-Mn, Yolanda Jiménez-Tapia, Silvia Giono, Carlos Eslava, Rigoberto Hernández-Castro, Juan Xicohtencatl-Cortes. Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2013;70(2):13.
6. F. B, J. G. Prudent use of antimicrobial agents: revisiting concepts and estimating perspectives in a global world. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2010;28(8):487-8.
7. Roca DAnLn. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2014; 48(4):9.
8. Díaz PR. Mutaciones relacionadas con resistencia a quinolonas en aislados de *Pseudomonas aeruginosa* de Fibrosis quística y de otras infecciones. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2011.
9. Javier Baena Del Valle CGmAa, Doris Gómez Camargo. Susceptibilidad antimicrobiana y genotipificación de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes con fibrosis quística y otras patologías en Cartagena (Colombia). *Salud Uninorte*. 2014; 30(2):16.
10. DACIA ISABEL MALAMBO GARCIA LA, JORGE ARBELAEZ, WILLIAM LOPEZ, DORIS GOMEZ CAMARGO, LUIS DEVOZ, EMILIANA FRANCO, FABIAN LLAMAS, JAIDER

- HERNANDEZ. Comparación de la susceptibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* aislada en pacientes con fibrosis quística y *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con otras entidades clínicas en la ciudad de Cartagena 2002-2003. *Revista Ciencias Médicas*. 2004;5(1):6.
11. Díaz OC. Identificación de polimorfismos en el gen *gyrA* de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes con fibrosis quística y otras patologías en la ciudad de Cartagena (Colombia). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2011.
  12. González CAP. Estudio Computacional de la Interacción de Antibióticos tipo Quinolonas con su enzima blanco ADN girasa y sus implicaciones en la resistencia bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa*. [Maestría]. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2015.
  13. Almeida FAE. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA en *Pseudomonas aeruginosa* DE 4-AMIDO-2-ALQUIL TETRAHIDROQUINOLINAS. Barranquilla: Universidad del Atlántico; 2014.
  14. Fabián A. Espitia-Almeida MMO-D, Doris E. Gómez-Camargo, Roger H. Valle-Molinares, Margarita Gutiérrez, Carlos M. Meléndez. SYNTHESIS OF NEW 2-ALKYL (TETRAHYDROQUINOLINE-4-YL) FORMAMIDE USING IDA REACTIONS, STUDY OF THE ANTIMICROBIAL AND DEGRADATIVE BACTERIAL DNA EFFECTS *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2015.
  15. Ochoa-Díaz MM. Perfil epidemiológico molecular y clínico de las infecciones asociadas a la atención en salud en unidades de cuidado intensivo en Cartagena de Indias D.T., Colombia: Universidad de Cartagena; 2016.
  16. Margarita María Ochoa-Díaz DEG-C, DADIS. Perfil epidemiológico de patógenos asociados a infecciones en Unidades de Cuidado Intensivo Adulto del Distrito de Cartagena de Indias, segundo semestre, 2015. 2015.

## EL LABORATORIO UNA VISIÓN DE EMPRESA PRODUCTIVA

### IDEAS PARA UNA BUENA GESTIÓN EN LA FASE PRE-ANALÍTICA

Carlos Daniel Navarro

Bioquímico. Presidente Confederación Latinoamericana de bioquímica clínica, CFOLABIOCLI.

Los avances científicos que se reflejan con la aparición de nuevas técnicas y métodos aplicados en los laboratorios de salud han permitido un sustancial incremento en la productividad, generando la necesidad de revisar las actividades relacionadas al rol que deben cumplir los profesionales del laboratorio en las diferentes etapas del proceso de trabajo, con el objetivo primordial de jerarquizar el ejercicio profesional, a partir de un perfil que los posicione como consultores y asesores del equipo de salud en todo lo vinculado a los análisis clínicos, bacteriológicos, toxicológicos, bromatológicos, del ambiente y las demás áreas propias de su incumbencia. Específicamente en el laboratorio de análisis clínicos el profesional debe aportar no solo resultados analíticos, sino información que ayude a prevenir la enfermedad y, que también colabore en el diagnóstico, pronóstico, seguimiento y tratamiento de la misma.

El ciclo analítico comienza con la decisión del médico de realizar un test, a partir de este momento se da inicio a lo que se denomina fase pre-analítica, que consiste en interpretar la solicitud del médico, brindar las indicaciones de preparación a la persona, obtener información que pudiera ser de importancia, finalizando con la obtención, preparación y transporte, si fuera necesario, de la muestra. De esta manera, se da inicio a la fase analítica que consiste en el análisis propiamente dicho de la muestra y es la fase que mayor control ha tenido a partir de utilizar nuevas técnicas y métodos de gran sensibilidad y especificidad. El ciclo finaliza con la denominada fase post-analítica que consiste en validar el resultado obtenido a partir de la información aportada por la persona atendida, el diagnóstico presuntivo, la historia clínica y analítica, generando de esta manera el informe y la comunicación con el médico que solicitó las prácticas si fuera necesario.

El aporte de la tecnología ha generado muchos interrogantes respecto a cómo se complementa con el trabajo de los profesionales de laboratorios de salud, por un lado disminuye los procesos necesarios para obtener un resultado confiable, con el impacto lógico en la calidad analítica y, por otro, proporciona mayor disponibilidad de tiempo, y por la dinámica del conocimiento y las comunicaciones obliga a que el tiempo ganado se invierta en capacitación y, a controlar aquellas fases del ciclo que requieren de la comunicación directa con las personas, es decir que no debemos pensar en trabajar menos, sino, mejor, con una mayor dedicación en las fases pre y post-analíticas.

#### Distribución de Errores Proceso Analítico

Fase	1991	1997	2004	2007	2010
Pre-analítica	46%	68%		62%	77%
Analítica	7%	13%		15%	8%
Post-	47%	19%	59%	23%	15%

1991 - Ross and Boone. Inst. of Critical Issues in Health Lab Pract - 1997 – Plebani and Carraro. Clin Chem 43:1348 - 2004 – Wang S, Arch Pathol Lab Med - 2007 – Carraro, P. Plebani, M. Clin Chem. 2007; 53:1338-1342 - 2010 – Goswami Clin Chem Lab Med 2010; 48(1):63-66

Como se puede observar en los trabajos de investigación realizados con el objetivo de detectar los errores en el laboratorio de salud, hay una disminución importante de los mismos en la denominada fase analítica, esto como consecuencia de la nueva tecnología aplicada y también por las políticas de calidad implementadas en las últimas décadas, mientras que hay un crecimiento importante en los errores en las fases pre y post- analíticas, indicando que si queremos revertir esta situación se debe centrar la atención en la gestión desarrollada en el inicio y final del proceso de trabajo.

El incremento observado en las causas de error adjudicados a la fase pre-analítica en el transcurso del tiempo, pueden estar justificadas a partir de las diferencias de criterio para seleccionar el inicio de la misma, ya que en principio se consideraba



que la fase abarcaba desde la extracción de la muestra, hasta su preparación para ser procesada. En la actualidad se considera la fase a partir de la solicitud del médico, a punto tal, que hay quienes consideran una fase pre-pre y posteriormente la pre-analítica, siendo la pre-pre la que se ocupa de la interpretación de la prescripción (petición) médica y de la preparación de la persona para que asista en condiciones óptimas al laboratorio y, a partir de ese momento la fase pre, que incluye la extracción de la muestra, la preparación, transporte y conservación si se hubiera obtenido fuera del laboratorio.

La prescripción es el documento que el médico emite para solicitar las prácticas que posteriormente le ayudaran a tomar una decisión respecto al seguimiento, tratamiento o control de evolución de la persona que solicitó atención, por requerimientos legales en la mayoría de los países es obligatorio que sea de puño y letra del profesional, por la habitual y también universal caligrafía del médico, es importante que el profesional del laboratorio sea el encargado de dicha tarea, delegar en el personal administrativo suele ser una de las principales causas de error. El documento tiene que contar con: identificación de la persona, nombres, apellidos, sexo, fecha de nacimiento, número de identificación, si es urgente, de especialista, atención domiciliaria, prácticas solicitadas, diagnóstico o síntesis de historia clínica si corresponde. En sistemas cerrados se puede consensuar desde el servicio la utilización de formularios pre-impresos y con el desarrollo de las herramientas informáticas se avanza hacia las solicitudes digitales, debiendo resolver los aspectos legales para su implementación.

La preparación con las instrucciones o indicaciones para la persona atendida, es otro de los documentos críticos de la fase, ya que por conceptos de calidad y seguridad legal, debemos recurrir a formularios pre-impresos que expliquen las condiciones en las que la persona debe acudir al laboratorio para la extracción del material, es habitual que se recurra a un léxico extremadamente técnico, que de hecho, complica la comprensión y genera una fuente de error importante en la etapa, de ésta manera se hace imprescindible que el profesional se comunique con la persona que requiere el servicio, en particular para aquellas pruebas que requieren de procedimientos particulares o engorrosos, para garantizar que la persona entienda y, luego cumpla las indicaciones escritas entregadas, que podrán ser formularios pre-impresos o de puño y letra.

Existen fluctuaciones en las magnitudes biológicas, cuyas causas deben ser parte de la información obtenida en la fase pre-analítica, que obligan a tener un conocimiento actualizado de las causas que pueden generar variabilidad en los resultados obtenidos, la misma puede ser de origen biológico intra-individuales tales como, edad, sexo, ingesta reciente, ayuno prolongado, cambio de postura, ejercicio intenso, atención médica, entre otros. O de origen biológico inter-individuales, por ejemplo, raza, embarazo, ciclo menstrual, altitud, clima, masa corporal, estatura, stress, etc. Por tratarse de situaciones personales, en muchos casos de índole privado, es importante, por dignidad en la atención y por seguridad legal, que el

profesional sea quien interrogue a la persona antes de la extracción para obtener la información, que posteriormente será de utilidad para validar el resultado analítico obtenido y brindar información al médico solicitante.

No menos importante en esta fase, es el conocimiento de las variaciones que pueden originarse por causas analíticas, estas pueden ser de origen endógeno, suero icterico, suero lipémico u hemolítico. También causas exógenas provocadas por contaminación de la muestra, interferentes químicos o por fármacos, en este último caso hay que considerar los avances de la industria farmacéutica y los cambios de hábitos de la sociedad que han provocado el consumo de medicamentos no solo indicados por el médico, sino también, de aquellos denominados de la nueva cultura o estilo de vida, que por diversos mecanismos, pueden provocar interferencias in-vitro (métodos dependientes) o in-vivo, por inducción enzimática, inhibición o secreción. Todas las posibles causas de variabilidad analítica tienen que ser consideradas con el propósito de definir los criterios de aceptación y rechazo de muestras.

El otro proceso a controlar que puede interferir en los resultados obtenidos, es el que corresponde a la extracción del material biológico, en donde la causa más común de error se genera, cuando se trata de sangre venosa, en la modalidad de extracción y generalmente en el tiempo de aplicación del torniquete, que por homeostasis provoca alteración por hemoconcentración en un número importante de metabolitos. Una vez hecha la extracción se debe identificar la muestra, siendo conveniente rotular solo la cantidad de tubos a utilizar, los mismos deben conservarse hasta el momento de centrifugar en condiciones adecuadas de temperatura y, para aquellos metabolitos que lo requieran, al abrigo de la luz. Es conveniente que el proceso de centrifugación se realice dentro de la primera hora de obtenida la muestra.

Para garantizar la calidad en la fase, hay que tener en cuenta dos conceptos básicos: el primero, es documentar cada uno de los procedimientos, describiendo de manera clara, los materiales necesarios, los tiempos, los interferentes y los requisitos particulares para los diferentes especímenes, de esta manera el trabajo no se altera aún con cambios del operador. En segundo lugar se hace imprescindible la comunicación del profesional del laboratorio con las personas atendidas, ya que de la comprensión y seguimiento de las instrucciones entregadas y la información que nos proporciona en el momento de la atención dependerá el informe final que saldrá del laboratorio y, así nos ayudará a no olvidar nunca, que detrás de cada número o código de identificación de una muestra hay una persona, que sufre, se angustia a la espera de un informe que le ayudará a mejorar su estado de salud o evitar la aparición de una enfermedad.

### **Bibliografía**

1. Alsina MJ, Álvarez V, Cortés M, Martínez Bru C, Planells P, Ramón F, y cols. Programa de Evaluación Externa de la Calidad para la fase preanalítica. Quim Clin 2003; 22: 359-62

2. Guder WG, et al. Muestras: del paciente al laboratorio. Darmstadt (Alemania). Edt Git Verlag. 1996
3. Instituto Catalán de Salud. Curso para profesionales sanitarios de los módulos de extracción y toma de muestras. 1995
4. Instituto Nacional de la Salud. Manual de toma de muestras para el laboratorio clínico. Madrid. 1995.

## RESPONSABILIDAD ÉTICA DE LOS PRINCIPALES ACTORES DEL MERCADO LABORAL DEL BACTERIÓLOGO EN COLOMBIA

Aida Porras Caicedo

Bióloga, MSc Biología, aida.porras@quik.com.co

### Resumen

El profesional de bacteriología en Colombia, al igual que otros profesionales no solo del sector salud ha visto como el acceso a los mercados laborales se va restringiendo cada vez más, adicional a que las compensaciones económicas usualmente no superan sus expectativas. En este documento, analizaremos quienes son los principales actores que definen el mercado laboral del bacteriólogo en Colombia y qué responsabilidad tienen en la actual situación de desempleo y bajas compensaciones económicas que afronta este gremio. Para iniciar analizaremos el significado de: Responsabilidad Ética, para luego describir el contexto del mercado laboral del laboratorio clínico como IPS, *Institución Prestadora de servicios de Salud, dentro del SNS, Sistema Nacional de Salud de Colombia*, posteriormente analizaremos datos específicos de algunos actores y durante todo el documento invitaremos a la reflexión del rol de los actores de este mercado laboral.

### Responsabilidad ética

Responsabilidad, se define como la capacidad existente en todo sujeto activo de derecho para reconocer y aceptar las consecuencias de un hecho realizado libremente. (Real Academia Española, 2012); la ética por su parte se define como el conjunto de normas *morales* que rigen la conducta humana (Real Academia Española, 2012), y la moral es la ciencia que trata del bien en general, y de las acciones humanas en orden a su bondad o malicia, (Real Academia Española, 2012).

Con las 3 definiciones anteriores, podemos definir responsabilidad ética **como la capacidad de reconocer y aceptar que con nuestras acciones hacemos el bien o el mal**. A su vez “bien” se relaciona con utilidad y beneficio y “mal” es lo contrario al bien, lo que se aparta de lo lícito y honesto (Real Academia Española, 2012); incluyendo la cuarta definición de “bien” definiríamos responsabilidad ética

como: **“La capacidad de reconocer y aceptar que con nuestras acciones generamos beneficio”**

### Sistema General de Seguridad Social en Colombia.

Los laboratorios clínicos como IPS, “instituciones prestadoras de servicios de salud”, hacen parte de los actores del SGSSS, sistema General de Seguridad Social en Colombia, el cual está compuesto básicamente por tres entes, EL ESTADO como ente de coordinación, dirección y control, LOS ASEGURADORES que actúan como administradoras de los recursos y LOS PRESTADORES, instituciones prestadoras de salud, IPS. (Congreso de la República de Colombia, 1993). Figura 1.

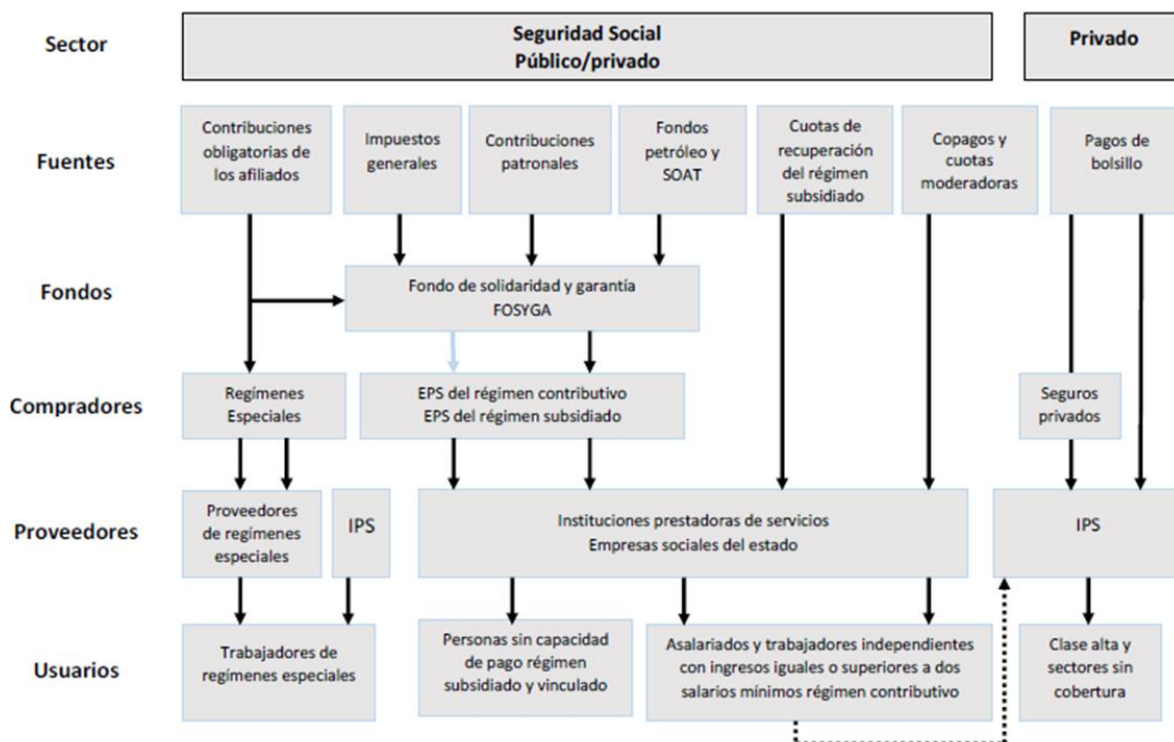


Figura 1. Cadena de intermediación del sistema nacional de salud en Colombia Fuente: (Guerrero, Gallego, Becerril-Montekio, & Vásquez, 2011)

Según el Registro Especial de Prestadores de Servicios de Salud, del Ministerio de salud y protección social a 27 Mayo, 2015, (Ministerio de salud y protección social, 2015) existen 4752 laboratorios clínicos habilitados, los cuales corresponden a 3951 NITS, lo cual indica que varias organizaciones tienen más de un laboratorio. Los laboratorios Clínicos de alto nivel de complejidad en Colombia representan solamente el 6,71%, pero estos están representados solo en 274 NITS, que corresponden a su vez al 6,93 % de todos los NIT (Número de Identificación Tributaria). Tabla 1, Figura 2.

	Alto NC*	Mediano NC*	Bajo NC*	Totales
Total Laboratorios clínicos por nivel de complejidad	319	1194	3239	4752
Participación porcentual	6,71%	25,13%	68,16%	100,00%
Total NITS	274	1028	2649	3951
Participación porcentual	6,93%	26,02%	67,05%	100,00%

Tabla 1. Distribución de los laboratorios clínicos de alto, mediano y bajo nivel de complejidad en Colombia Fuente: Elaboración propia a partir de <http://prestadores.minsalud.gov.co/habilitacion/>

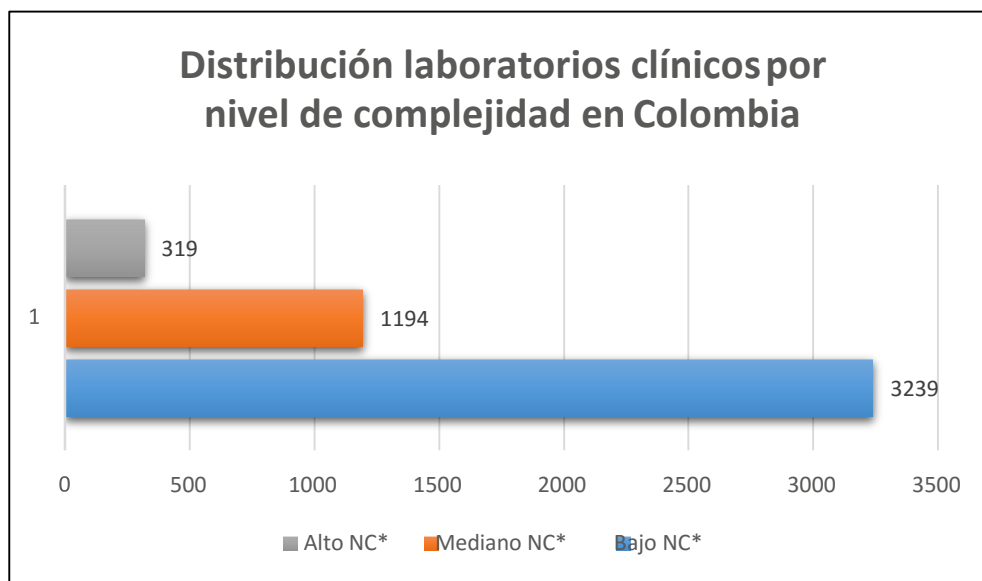


Figura 2. Distribución de los laboratorios clínicos de alto, mediano y bajo nivel de complejidad en Colombia Fuente: Elaboración propia a partir de <http://prestadores.minsalud.gov.co/habilitacion/>

Analizando la base de datos de los 4752 laboratorios clínicos existentes en Colombia se encuentra que hay organizaciones que tienen 17, 28 o 42 laboratorios, en general tenemos 3695 NIT que corresponden a laboratorios individuales y 279 NIT que tienen más de un laboratorio, Tabla 2.

Esta realidad nos indica que se están formando cadenas de laboratorios que buscan economías de escala para reducir costos, con capacidad para ofrecer tarifas más bajas lo cual conlleva a que se va concentrando el mercado en pocas compañías, igualmente que cada vez más los empleadores se van reduciendo en pocas compañías, adquiriendo mayor poder de negociación sobre el profesional del laboratorio clínico.

Número de NIT	No de NIT según el número de laboratorios agrupados	Clasificación		Sub Total Laboratorios	Sub Total Laboratorios
3695	3695	1 NIT- 1 LABORATORIO	1	3695	3695
279	140	1 NIT -2 LABORATORIOS	2	280	1057
	49	1 NIT -3 LABORATORIOS	3	147	
	28	1 NIT -4 LABORATORIOS	4	112	
	21	1 NIT -5 LABORATORIOS	5	105	
	14	1 NIT -6 LABORATORIOS	6	84	
	4	1 NIT -7 LABORATORIOS	7	28	
	6	1 NIT - 8 LABORATORIOS	8	48	
	5	1 NIT - 9 LABORATORIOS	9	45	
	4	1 NIT -11 LABORATORIOS	11	44	
	1	1 NIT -13 LABORATORIOS	13	13	
	1	1 NIT - 5 LABORATORIOS	15	15	
	2	1 NIT -16 LABORATORIOS	16	32	
	2	1 NIT -17 LABORATORIOS	17	34	
	1	1 NIT -28 LABORATORIOS	28	28	
1	1 NIT -42 LABORATORIOS	42	42		
3974	3974			4752	4752

Tabla 2. Distribución de los laboratorios clínicos agrupados por NIT

Fuente: Elaboración propia a partir de <http://prestadores.minsalud.gov.co/habilitacion/>

## Actores del mercado laboral del Bacteriólogo en Colombia

Dentro de los actores del mercado laboral del bacteriólogo en Colombia encontramos los propietarios de los laboratorios clínicos, las EPS, el SNS, Sistema Nacional de Salud, el Estado y sus políticas, las Universidades, el CNB, Colegio Nacional de Bacteriólogos y por supuesto los propios bacteriólogos/as.

¿De quién es la responsabilidad del nivel de desempleo del profesional de bacteriología o en general de los otros profesionales, técnicos, tecnólogos o en general de la población?, ¿la responsabilidad es de los laboratorios clínicos que aún a pesar de sus utilidades pagan salarios bajos a sus bacteriólogos, o realmente es que las utilidades de los laboratorios no alcanzan para pagar mejores salarios?,

¿La responsabilidad es de las EPS que contratan a los laboratorios Clínicos con tarifas cada vez más bajas, de tal forma que no permiten generar las utilidades requeridas para ofrecer mejores compensaciones económicas? ¿La responsabilidad es de los entes gubernamentales que a través de las políticas existentes del sistema Nacional de salud han favorecido el enriquecimiento de algunos actores, en detrimento de otros?

¿Es responsabilidad de las 18 universidades, (Tabla 3) que ofrecen el programa de bacteriología y que aun sabiendo que no hay oferta laboral para bacteriólogos siguen ofreciendo cupos y obteniendo ingresos por la matrícula de estudiantes durante 4 o 5 años, sin importarles que sus futuros egresados engrosarán las filas de desempleados en el país? Y que adicional siguen ofreciendo pensum diseñados para los laboratorios clínicos que existían hace 10 y 15 años.

1	Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca- Bogotá	10	Universidad Católica de Manizales- Manizales
2	Universidad Industrial de Santander- Bucaramanga	11	Corporación Universitaria Rafael Núñez (Cartagena)
3	Universidad del Valle- Cali	12	Colegio Mayor de Antioquia- Medellín
4	Universidad del Santander - Bucaramanga	13	Universidad Simón Bolívar-
5	Universidad del Santander - Cúcuta	14	Universidad San Buenaventura -
6	Universidad del Santander -Valledupar	15	Pontificia Universidad Javeriana - Bogotá
7	Universidad de Pamplona- Pamplona	16	Universidad de Antioquia- Medellín
8	Universidad de Córdoba- Montería	17	Universidad Metropolitana
9	Universidad de Boyacá -Tunja	18	Universidad Libre

Tabla 3. Universidades en Colombia que ofrecen el programa de Bacteriología y laboratorio clínico o Bioanálisis y Microbiología.

¿Es responsabilidad del Colegio Nacional de Bacteriólogos por no trabajar por leyes que favorezcan la profesión?, ¿O es responsabilidad de todos y cada uno de los profesionales de bacteriología que escogieron estudiar una profesión que no tiene mercado laboral o que no han sido conscientes de los cambios del entorno y no han aumentado sus habilidades y capacidades para poder ofrecer al mercado actual, aportes que mejoren la productividad de las organizaciones?, ¿De quién es responsabilidad de la débil identidad profesional que desde la universidad muestran en algunas situaciones los estudiantes de bacteriología? (Campos-Hernández, Gaspar-Hernández, & Velásquez-Burgos, 2015).

Qué al país le sobran bacteriólogos no es un hecho desconocido, en el 2004, el entonces viceministro de salud y bienestar, Juan Gonzalo López indicaba que teníamos una sobreoferta del 52,3 % en el personal de bacteriología, pues existía una oferta de 17.608 bacteriólogas, pero el mercado solo requería 8.382 Tabla 4. (López, 2004) años más tarde también se publicaba en un medio de noticias, que al país le sobraban bacteriólogos, ya íbamos en 19.900, con 6.000 desempleados (Caracol Radio, 2006).

Personal	Oferta	Demanda
Médicos	50.855	48.149
Odontólogos	30.396	15.180
Enfermeras	23.063	12.195

Nutricionistas	5.825	1.087
Bacteriólogas	17.608	8.382
Aux. Enfermeras	82.406	62.678
<b>Total</b>	<b>210.1530</b>	<b>147.671</b>

Tabla 4. Distribución de ocupaciones según la oferta y la demanda. (29.7% no laboran en el sector)  
Fuente: (López, 2004)

El cubrimiento en salud de los 43.642.792 afiliados a Diciembre del 2014, el 98 % (42.768.068) se encuentra concentrado en por 12 EPS para el régimen contributivo y 33 EPS para el régimen subsidiado. Estas 45 EPS controlan una gran parte del mercado de la salud en el país y por ende el mercado de los laboratorios clínicos del país. Tabla 5 y 6.

Adicionalmente muchas de estas EPS han decidido optar por el modelo de integración vertical creando sus propias IPS, como los laboratorios clínicos. El mercado laboral de los laboratorios clínicos están altamente influenciado por las EPS existentes en el país, pues los laboratorios clínicos privados prestan sus servicios sujetos a contrataciones con EPS, a muy bajos costos, dejándoles muy poca rentabilidad y generando una fuerte competencia por el segmento poblacional que asiste a consulta con médicos privados (Botero Álvarez, Giraldo Montoya, & González Orozco, 2011).

La ley 100 de 1993 autorizó los procesos de integración vertical, que consisten en la posibilidad de que las funciones de aseguramiento y de prestación del servicio de salud provengan de una misma organización empresarial, (Congreso de la República de Colombia, 1993) sin embargo y aunque el artículo 15 de la ley 1122 del 2007 limitó al 30% el porcentaje de integración vertical patrimonial (CONGRESO DE LA REPUBLICA DE COLOMBIA, 2007), posterior a la ley no hubo efectos sobre la competencia de las EPS del régimen contributivo, probablemente porque existen otro tipo de alianzas estratégicas entre aseguradoras y prestadoras que están separadas jurídicamente pero que se relacionan mediante contratos con diversos grados de exclusividad, ante lo cual Merlano y Gorbanev indican que sería conveniente que el gobierno revisara también la integración desde las IPS hacia las EPS y no solo desde las EPS hacia las IPS (Merlano Porras & Gorbanev, 2011).

AFILIACION REGIMEN CONTRIBUTIVO						
No.	EPS	CODIGO	AFILIACION DIC		PART %	PARTICIPACION
1	SALUDCOOP	EPS013	4,164,162	4,164,162	20.05846	20.06
2	COOMEVA	EPS016	2,957,208	7,121,370	14.24466	34.30
3	NUEVA EPS	EPS037	2,755,618	9,876,988	13.27361	47.58
4	SALUD TOTAL	EPS002	2,144,020	12,021,008	10.32759	57.90
5	SURA	EPS010	1,960,080	13,981,088	9.44156	67.35
6	FAMISANAR	EPS017	1,581,000	15,562,088	7.61556	74.96
7	SANITAS	EPS005	1,302,774	16,864,862	6.27537	81.24
8	COMPENSAR	EPS008	1,031,399	17,896,261	4.96817	86.20
9	SOS	EPS018	880,083	18,776,344	4.23930	90.44



10	CAFESALUD	EPS003	698,540	19,474,884	3.36482	93.81
11	CRUZ BLANCA	EPS023	543,970	20,018,854	2.62026	96.43
12	COMFENALCO VALLE	EPS012	315,428	20,334,282	1.51939	97.95
13	ALIANSA SALUD	EPS001	243,670		1.17374	99.12
14	SALUDVIDA	EPS033	72,006		0.34685	99.47
15	FERROCARRILES	EAS027	45,519		0.21926	99.69
16	GOLDEN GROUP	EPS039	43,444		0.20927	99.90
17	EPM	EAS016	11,274		0.05431	99.95
18	HUMANA VIVIR	EPS014	4		0.00002	99.95
19	MULTIMEDICAS	EPS038	1		0.00000	99.95
20	SALUDCOLOMBIA	EPS034	1		0.00000	99.95
21	SOLSALUD	EPS026	1		0.00000	99.95
22	EMSSANAR - MOVILIDAD		3,412		0.01644	
23	MUTUAL SER - MOVILIDAD		1,726		0.00831	
24	COOSALUD - MOVILIDAD		780		0.00376	
25	ASMET SALUD - MOVILIDAD		690		0.00332	
26	CONVIDA - MOVILIDAD		653		0.00315	
27	COMFAMILIAR HUILA -		583		0.00281	
28	COMFACOR - MOVILIDAD		386		0.00186	
29	AMBUQ - MOVILIDAD		335		0.00161	
30	COMFAMILIAR NARIÑO -		251		0.00121	
31	CAPRESOCA - MOVILIDAD		243		0.00117	
32	MALLAMAS - MOVILIDAD		213		0.00103	
33	COMPARTA - MOVILIDAD		184		0.00089	
34	COMFAMA - SAVIA SALUD -		167		0.00080	
35	CAJACOPI - MOVILIDAD		135		0.00065	
36	MANEXKA - MOVILIDAD		80		0.00039	
37	COLSUBSIDIO - MOVILIDAD		51		0.00025	
38	ANASWAYUU - MOVILIDAD		16		0.00008	
39	EMDISALUD - MOVILIDAD		9		0.00004	
40	COMFACHOCO - MOVILIDAD		5		0.00002	
41	CAFESALUD - MOVILIDAD		2		0.00001	
	<b>TOTAL</b>		<b>20,760,123</b>		<b>100.0</b>	

Tabla 5. EPS del régimen contributivo en Colombia a diciembre, 2014 Fuente: (Superintendencia de salud Colombia, 2014)

AFILIACION REGIMEN SUBSIDIADO						
No.	EPS	CODIGO	AFILIACION DIC 2014		PART %	PARTICIPACIÓN
1	CAPRECOM	EPS020	3.317.658	3.317.658	14.499	14.499
2	COMFAMA	CCF002	1.695.023	5.012.681	7.407	21.906
3	EMSSANAR	ESS118	1.655.668	6.668.349	7.235	29.141
4	COOSALUD	ESS024	1.641.170	8.309.519	7.172	36.314
5	ASMET SALUD	ESS062	1.611.696	9.921.215	7.043	43.357
6	COMPARTA	ESS133	1.592.773	11.513.988	6.961	50.318
7	SALUDVIDA	EPSS33	1.334.643	12.848.631	5.833	56.150
8	MUTUAL SER	ESS207	1.169.151	14.017.782	5.109	61.259
9	CAPITAL SALUD	EPSS34	1.066.145	15.083.927	4.659	65.919
10	CAFESALUD	EPSS03	1.007.635	16.091.562	4.403	70.322
11	AMBUQ	ESS076	847.844	16.939.406	3.705	74.027
12	COMFACOR	CCF015	561.813	17.501.219	2.455	76.482
13	CAJACOPI ATLANTICO	CCF055	556.074	18.057.293	2.430	78.913
14	COMFAMILIAR HUILA	CCF024	491.023	18.548.316	2.146	81.058
15	EMDISALUD	ESS002	490.825	19.039.141	2.145	83.203
16	AIC	EPSI03	436.133	19.475.274	1.906	85.109

17	CONVIDA	EPS022	358.364	19.833.638	1.566	86.675
18	MALLAMAS	EPSI05	289.003	20.122.641	1.263	87.938
19	ECOOPSOS	ESS091	279.304	20.401.945	1.221	89.159
20	DUSAKAWI	EPSI01	248.696	20.650.641	1.087	90.246
21	COMFAMILIAR CARTAGENA	CCF007	238.993	20.889.634	1.044	91.290
22	MANEXKA	EPSI02	226.866	21.116.500	0.991	92.282
23	COMFAMILIAR NARIÑO	CCF027	178.281	21.294.781	0.779	93.061
24	CAFAM	CCF018	174.845	21.469.626	0.764	93.825
25	CAPRESOCA EPS	EPS025	145.423	21.615.049	0.636	94.460
26	CAJA DE COMPENSACION DE LA	CCF023	126.128	21.741.177	0.551	95.012
27	ANASWAYUU	EPSI04	120.389	21.861.566	0.526	95.538
28	COMFAORIENTE	CCF049	117.131	21.978.697	0.512	96.050
29	COMFABOY	CCF009	104.503	22.083.200	0.457	96.506
30	COMFASUCRE	CCF033	96.923	22.180.123	0.424	96.930
31	COLSUBSIDIO	CCF101	90.256	22.270.379	0.394	97.324
32	COMFACHOCO	CCF102	83.229	22.353.608	0.364	97.688
33	PIJAOS SALUD EPSI	EPSI06	80.178	22.433.786	0.350	98.038
34	COMFACUNDI	CCF053	79.571		0.348	
35	COMFANORTE	CCF045	54.035		0.236	
36	SALUD TOTAL	EPSS02	28.957		0.127	
37	SOLSALUD	EPSS26	27		0.000	
38	CALISALUD	EPS028	1		0.000	
39	SALUDCOOP CM	EPSS13	108,571		0,474	
40	LA NUEVA EPS-CM	EPSS37	53,513		0,234	
41	COOMEVA-CM	EPSS16	34,108		0,149	
42	FAMISANAR-CM	EPSS17	25,625		0,112	
43	SURAMERICANA -CM	EPSS10	19,588		0,086	
44	S.O.S.-CM	EPSS18	10,121		0,044	
45	CAFESALUD-CM	EPSSM03	9,282		0,041	
46	COMPENSAR-CM	EPSS08	9,259		0,040	
47	CRUZ BLANCA CM	EPSS23	7,583		0,033	
48	COMFENALCO VALLE-CM	EPSS12	5,135		0,022	
49	GOLDEN GROUP-CM	EPSS39	1,416		0,006	
50	SANITAS-CM	EPSS05	1,411		0,006	
51	SALUDVIDA-CM	EPSSM33	468		0,002	
52	ALIANSSALUD-CM	EPSS01	212		0,001	
	<b>TOTAL</b>		<b>22,882,669</b>		<b>100.000</b>	

Tabla 6. EPS del régimen subsidiado en Colombia a diciembre, 2014 Fuente: (Superintendencia de salud Colombia, 2014)

## Distancia entre competencia y ejercicio profesional

Otro de los aspectos a considerar es si el real ejercicio laboral de un profesional en bacteriología en Colombia se distingue del quehacer de un Técnico en laboratorio, la cual es una opción de educación tecnológica que está disponible en algunos países como España, Chile y México. Si bien en los programas profesionales en su mayoría la formación es de 5 años es importante ser conscientes si para el real ejercicio laboral no están sobre calificados los bacteriólogos. En muchas situaciones el quehacer del profesional bacteriólogo es el quehacer de un técnico, tales como realizar estudios de bioquímica clínica, estudios microbiológicos, aplicar procedimientos y técnicas para el manejo de reactivos, etc. Tabla 7.

1	Organizar y gestionar a su nivel, el área de trabajo asignada en la unidad/gabinete.	6	Realiza los procedimientos y técnicas para la obtención de los diferentes tipos de muestras biológicas.
2	Obtener, registrar, clasificar y distribuir muestras biológicas humanas.	7	Aplica los procedimientos y técnicas para el manejo de reactivos, materiales y equipos de laboratorio clínico con base a las normas oficiales mexicanas (NMX-EC-15189:IMNC.2006), internacionales (ISO 15189:2003 APARTADO 5.5.2).
3	Realizar estudios de bioquímica clínica procesando y analizando muestras biológicas humanas.	8	Aplica técnicas para el diagnóstico bacteriológico, inmunológico, hematológicas, parasitológicas, técnicas cualitativas y cuantitativas para la valoración clínica y metabólica del paciente con base a las normas del control de calidad.
4	Realizar estudios microbiológicos procesando y analizando muestras de origen humano.	9	Promueve el trabajo colaborativo, asume actitud de triunfo, autoestima, responsabilidad, puntualidad, trabajo, iniciativa, investigación, perseverancia y constancia.
5	Realizar estudios hematológicos y genéticos procesando y analizando muestras de médula ósea y sangre humanas, y obtener hemoderivados.		

Tabla 7. Perfil del egresado de Técnico Superior en Laboratorio de Diagnóstico Clínico y Técnico laboratorista Clínico

Fuente: (Gobierno de España-Ministerio de Educación, 2015), (Instituto Politécnico Nacional, 2015)

Sin duda existen otros campos laborales para el profesional bacteriólogo en Colombia diferentes a la operatividad, pero un gran porcentaje de los egresados se ubican en los laboratorios clínicos.

## Conclusiones

La responsabilidad ética de los actores del mercado laboral del Bacteriólogo en Colombia implica **“la capacidad de reconocer y aceptar que con nuestras acciones generamos beneficio”**, tanto los futuros profesionales deben reconocer y aceptar si con su decisión están generando beneficios para sí mismos y para la sociedad, las universidades deben también reconocer si con los programas ofrecidos están generando beneficio a los estudiantes que adicional a la inversión económica, invierten alrededor de 5 años de sus vidas en esta formación; las EPS, los dueños de laboratorios privados y las agremiaciones igualmente deben reflexionar acerca de qué acciones deben realizarse para generar beneficio a la comunidad de pacientes y de bacteriólogos del país.

Y los bacteriólogos actuales, quienes ya se graduaron deben entender también que el mundo es cambiante, que la automatización del laboratorio clínico es real y que esta conlleva a que las opciones laborales para la operatividad de sistemas de

medición cada vez serán menores y que en igual forma que en la narración de ¿Quién se ha llevado mi queso?(Johnson & Indriago, 2000), el mundo del laboratorio Clínico es cambiante y continua en plena evolución, que ser profesional no implica solamente un grado universitario, sino que ser profesional implica el desarrollo continuo de habilidades, capacidades, destrezas y competencias para poder permanecer vigente en el actual mundo laboral.

Sin duda existe mercado laboral para el profesional del Laboratorio clínico, cada día nos encontramos con múltiples publicaciones en las que se evalúa la aplicaciones de nuevos marcadores o pruebas de laboratorio para el diagnóstico precoz o más específico de una enfermedad, la necesidad de los clínicos de disponer pruebas más actuales es continua (Cuadrado Cenzual M.A, Ortega Madueño I, & Arroyo M, 2012), en la actual era de las “ómicas”, genómica, proteómica, y con el avance de la tecnología, las decisiones medicas son cada vez más influenciadas de los datos generados por los laboratorios clínicos, (Zérah, McMurray, & Horváth, 2014)se necesitan profesionales del laboratorio clínico que diseñen pruebas, produzcan reactivos, participen en el diseño de sistemas de medición, validen y verifiquen ensayos, garanticen altos estándares internacionales en los resultados de la medición, se requieren profesionales de laboratorios clínico que produzcan materiales de referencia, que estandaricen métodos de referencia, se requieren profesionales del laboratorio Clínico que participen en la producción de documentos como las guías de la CLSI, que participen en consensos internacionales, necesitamos representatividad de profesionales Colombianos en la IFCC, CLSI, JCTLM, CDC, OMS, etc.

Para mis apreciados y respetados colegas, profesionales del laboratorio clínico la buena noticia es que tenemos enormes retos por asumir, grandes construcciones que realizar, magnas transformaciones que liderar, se requiere pasión y dedicación por un maravilloso futuro.

## Referencias

1. Botero Alvarez, P. A., Giraldo Montoya, L. F., & González Orozco, C. (2011). *Incidencia en la disminución de costos a través de un óptimo aprovechamiento de la capacidad instalada para el mejoramiento de la competitividad de un Laboratorio Clínico Manizales Caldas*.
2. Campos-Hernández, M.-Á., Gaspar-Hernández, S., & Velásquez-Burgos, B.-M. (2015). Discurso y representaciones de estudiantes de Bacteriología y Trabajo Social. *Revista Iberoamericana de Educación Superior*, 6(15), 50-70.
3. Caracol Radio. (2006). Al país le sobran odontólogos y bacteriólogos pero le faltan nutricionistas. Retrieved from [http://caracol.com.co/radio/2006/01/31/nacional/1138684860\\_243827.html](http://caracol.com.co/radio/2006/01/31/nacional/1138684860_243827.html)
4. Ley 1112 (2007).
5. Congreso de la República de Colombia. (1993). *LEY 100 DE 1993*.
6. Cuadrado Cenzual M.A, Ortega Madueño I, & Arroyo M. (2012). *Utilidad de las pruebas diagnósticas en la practica clínica: Medicina de laboratorio basada en la evidencia* Comité de Formación Continuada- Asociación Española de Biopatología Médica (Ed.)
7. Gobierno de España-Mnisterio de educacion, c. y. d. (2015). Técnico superior en laboratorio de diagnóstico clínico. from <http://www.todofp.es/todofp/que-como-y-donde-estudiar/que-estudiar/familias/sanidad/laboratorio-diagnostico-clinico.html>

8. Guerrero, R., Gallego, A. I., Becerril-Montekio, V., & Vásquez, J. (2011). Sistema de salud de Colombia. *salud pública de méxico*, 53, s144-s155.
9. Instituto Politécnico Nacional. (2015). Perfil del egresado de Técnico Laboratorista Clínico. from <http://www.cecyt6.ipn.mx/OfertaEducativa/Paginas/TecnicoLaboratoristaClinico.aspx>
10. Johnson, S., & Indriago, H. (2000). *Quien Se Ha Llevado Mi Queso?* (Vol. 35): Ediciones Urano.
11. López, J. G. (2004). Oferta y demanda de recursos humanos en salud. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 22(99), 93-102.
12. Merlano Porras, C. A., & Gorbanev, I. (2011). ¿Por qué se limita la integración vertical en el sector salud en Colombia. *Revista Gerencia Políticas de Salud*, 10(20), 170-180.
13. Ministerio de salud y protección social, R. d. C. (2015). <http://prestadores.minsalud.gov.co/habilitacion/>.
14. Real Academia Española. (2012). Diccionario de la lengua española.
15. Superintendencia de salud Colombia. (2014). Afiliación regimen contributivo y subsidiado. from <http://www.supersalud.gov.co/supersalud/Default.aspx?tabid=955>
16. Zérah, S., McMurray, J., & Horváth, A. (2014). Our profession now has a European name: specialist in laboratory medicine. EFCC newsletter May 2011.

## ZOONOSIS: PATÓGENOS EN POTENCIA

### RETOS PARA EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DE ZOONOSIS EMERGENTES Y REEMERGENTES

Lina Gutiérrez Builes

Bacterióloga y Laboratorista Clínico, PhD en Ciencias Básicas Biomédicas. Docente, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia. [lina.gutierrezzb@upb.edu.co](mailto:lina.gutierrezzb@upb.edu.co)

El término zoonosis define a las infecciones y enfermedades que son de presentación frecuente en los animales y que se pueden transmitir entre los animales vertebrados y los seres humanos, y de manera viceversa (1). En este sentido, un agente con potencial zoonótico puede ser de diversa naturaleza, en su mayoría son bacterias (alrededor del 50%), seguido por virus, priones, protozoos, hongos y helmintos (2). Se ha estimado que al menos el 60% de todos los agentes infecciosos de importancia médica humana tienen carácter zoonótico, lo que corresponde a la descripción de cerca de 200 agentes etiológicos de zoonosis, constituyéndose al mismo tiempo en el 75% de todos los patógenos emergentes descritos en la última década (1). Una zoonosis es considerada como emergente cuando ha sido descrita por primera vez o ha evolucionado recientemente (salto en la barrera de especie), o aunque habiendo sido descrita con anterioridad, muestra un aumento significativo de la incidencia, expansión geográfica, rango de hospedadores o de vectores biológicos. Mientras que una zoonosis es catalogada como reemergente al ser históricamente persistente en algunas zonas del mundo, pero aumenta considerablemente su prevalencia (3).

Es importante advertir que muchos de los patógenos humanos que han surgido o resurgido en todo el mundo se originaron de la interacción, directa o indirecta con animales o con productos de origen animal. Algunas investigaciones han indicado que el origen de 71,8% de las enfermedades zoonóticas se ha asociado a la interacción humana con fauna silvestre (2). El porcentaje restante, se ha originado de la interacción con animales de tipo doméstico (animales de compañía y mascotas no tradicionales) y con los animales involucrados en la producción agropecuaria. Diversos factores han sido descritos como potenciadores de la aparición y expansión geográfica global de las enfermedades zoonóticas, por ocasionar alteraciones en las complejas interacciones ecológicas existentes entre agentes patógenos, vectores biológicos y hospedadores, tales como cambios generados en los ambientes naturales (fragmentación de hábitats, deforestación, urbanización), la expansión demográfica humana y animal, la evolución de los patógenos, los cambios en los patrones de uso del suelo y en las prácticas agrícolas y pecuarias, sumados a variedad de elementos sociales y culturales propios de cada región (4,5,6).

Asimismo, es importante resaltar que el manejo de las enfermedades zoonóticas no ha sido integral, pues la disociación histórica, y aún existente, entre la medicina humana y la medicina veterinaria ha conducido al estudio de las enfermedades zoonóticas en un ámbito limitado, omitiendo la interacción persistente y dinámica que se presenta entre los animales, el humano y el ambiente (5). Afortunadamente, este enfoque restringido y errado está comenzado a cambiar, con la iniciativa denominada One World, One Health, One Medicine, se está dando un primer acercamiento al propósito de trabajar de manera sistemática y articulada el tema de las enfermedades zoonóticas, intentando concientizar, a los profesionales del área de la medicina veterinaria y de la salud humana de la importancia que tiene un manejo interdisciplinario de este tema, para aunar conocimiento, experiencia y esfuerzo con el objetivo de alcanzar salud óptima para las personas, los animales y el ambiente (7). De esta manera, se plantea un primer reto para los profesionales de la Microbiología asociado con el diagnóstico etiológico de zoonosis emergentes y reemergentes para estudiar particularmente a los agentes etiológicos de enfermedades con potencial zoonótico, en un contexto interdisciplinario, apoyando la implementación de metodologías para su identificación, caracterización y control. Este reto debe verse al mismo tiempo como la responsabilidad y oportunidad de aportar a la protección de la salud pública y el bienestar de personas, animales y el ambiente en todas las áreas en las que tenemos influencia con nuestro saber y quehacer: diagnóstico microbiológico y pruebas de sensibilidad a los antibióticos, tanto en el contexto del diagnóstico asociado a la medicina humana como a la medicina veterinaria, en la valoración de la calidad y seguridad de los alimentos de origen animal, en la investigación científica sobre las zoonosis, e incluso en la participación interdisciplinaria orientada hacia la solución de diversos problemas ambientales.

Al entender que las enfermedades zoonóticas pueden resultar de la interacción con los animales, ya sea de forma directa o indirecta (por medio del ambiente, los reservorios y los vectores biológicos asociados) (2), se puede afirmar que estas patologías podrían ser de origen laboral o riesgo ocupacional, principalmente para aquellas profesiones u ocupaciones dedicadas al estudio, manejo, exhibición y preservación de fauna silvestre, ya sea en escenarios naturales o en el contexto de los parques zoológicos y acuarios; asimismo es importante considerar que algunas zoonosis podrían resultar de la exposición ocupacional que se da en la producción pecuaria, tras el contacto con una gran diversidad de especies animales, como los bovinos, porcinos, bufalinos, equinos, aves y especies acuícolas, entre otras. Sin olvidar que la convivencia cotidiana con los animales de compañía y mascotas no tradicionales, también representa un escenario propicio para la presentación de las zoonosis asociadas con estos. En este sentido, el segundo reto asociado con el diagnóstico etiológico de zoonosis emergentes y reemergentes tiene que ver precisamente con el conocimiento, con mayor detalle, de los contextos epidemiológicos locales, nacionales y globales, que potencien la generación de voluntad política para la destinación de los recursos, la disposición de la infraestructura y la normatividad necesaria para la implementación de estrategias acertadas para la vigilancia y el control de dichas patologías. De esta forma, desde la Microbiología podríamos aportar de manera interdisciplinaria en la caracterización de los diferentes escenarios en los cuales ocurre algún tipo de influencia e interacción antropogénica con diversos animales, con el fin de definir cuáles son las enfermedades zoonóticas de ocurrencia potencial en dichos contextos, y poder contar con estrategias más efectivas para su estudio y control. Seguramente el listado resultante de las zoonosis potenciales en cada contexto será abundante y complejo; sin embargo, no resulta conveniente esperar a que se presente la emergencia y reemergencia de patógenos zoonóticos en una zona determinada, sino hacer promoción de la salud humana, animal y del ambiente en dichos escenarios mediante el establecimiento de buenas prácticas que permitan aminorar el riesgo de transmisión de dichos agentes zoonóticos.

Si consideramos solo el contexto de la producción pecuaria Colombiana (8) , e incluso Suramericana, para hacer el ejercicio de enumerar los agentes zoonóticos potenciales asociados de manera particular con dos de los tipos de producción pecuaria principales, como lo son la ganadería bovina y porcina (9), se podrían referir diversos agentes etiológicos ya reconocidos de manera tradicional como zoonosis: tuberculosis, leptospirosis, brucelosis, rabia, hantavirus, cisticercosis, hidatidosis, carbunco, fasciolosis, entre otras, que continúan jugando un papel importante en la salud pública de la región. En el caso específico de la ganadería bovina existen algunas zoonosis de origen bacteriano como la rickettsiosis, anaplasmosis, borreliosis, ehrlichiosis y coxiellosis, y parasitosis como la babesiosis (10), cuyo vector biológico incriminado son las garrapatas y son consideradas enfermedades emergentes de importancia en el ámbito mundial, gracias a la aparición y expansión creciente de casos en todas las latitudes; sin embargo, en nuestro medio no existen datos sobre la prevalencia y dinámica de transmisión de

estas enfermedades, las cuales pueden variar desde una evolución clínica inespecífica con una infección asintomática o pseudogripe hasta una sepsis fulminante y fatal, muy similar al de otras entidades clínicas prevalentes en nuestro medio, presentándose un alto número de pacientes con síndrome febril de origen desconocido, generando confusión en el manejo clínico y para los cuales no se ofrece en la actualidad una alternativa diagnóstica y terapéutica pertinente.

En el caso de la producción porcina, existe un número importante de agentes zoonóticos emergentes que han sido asociados a este tipo de exposición ocupacional, y para los cuales se sospecha que tienen una distribución mundial, tales como el virus de la hepatitis E (HEV) y el virus de la gripe porcina (SIV), entre otros (11). La hepatitis E es una de las enfermedades zoonóticas emergentes asociadas a la producción porcina que ha llamado la atención en años recientes, gracias al reporte de alta seroprevalencia de anticuerpos específicos para este virus en diferentes partes del mundo, incluido Colombia. La Hepatitis E es endémica en diferentes zonas, a este virus se le han atribuido más de la mitad de los brotes de hepatitis agudas en humanos, encontrándose en algunas zonas con mayor frecuencia en comparación con el Virus de la Hepatitis A (HAV). Aunque la infección por el HEV presenta baja mortalidad, se ha observado que puede generar complicaciones clínicas graves en pacientes inmunocomprometidos y en las mujeres embarazadas (12).

Finalmente, es importante tener claro que ante los cambios económicos, sociales, climáticos, ambientales y biológicos actuales, es de suponerse que en diversas zonas del mundo podría estar ocurriendo una transmisión activa, no identificada y en algunas zonas subregistrada, de diferentes agentes etiológicos de enfermedades zoonóticas. En este sentido, es necesario que los profesionales del área de la salud aunemos criterios, conocimientos y esfuerzos para trabajar de manera interdisciplinaria en su prevención, desarrollo de capacidades para el diagnóstico temprano (incluyendo herramientas de biología molecular), tratamiento y control, mediante la integración efectiva en el ámbito local, nacional y global de los sistemas ambientales, de sanidad animal y de salud pública, para seguir muy de cerca esta problemática.

## Bibliografía

1. Disponible en internet: <http://www.who.int/topics/zoonoses/en/>
2. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008 Feb 21;451(7181):990-3.
3. Disponible en internet: [http://www.who.int/zoonoses/emerging\\_zoonoses/en/](http://www.who.int/zoonoses/emerging_zoonoses/en/)
4. Loh EH, Murray KA, Zambrana-Torrel C, Hosseini PR, Rostal MK, Karesh WB, Daszak P. Ecological Approaches to Studying Zoonoses. *Microbiol Spectr*. 2013 Dec;1(2).
5. Engering A, Hogerwerf L, Slingenbergh J. Pathogen-host-environment interplay and disease emergence. *Emerg Microbes Infect*. 2013 Feb;2(2):e5.
6. Lipkin WI. The changing face of pathogen discovery and surveillance. *Nat Rev Microbiol*. 2013 Feb;11(2):133-41.
7. Osburn B, Scott C, Gibbs P. One world--one medicine--one health: emerging veterinary challenges and opportunities. *Rev Sci Tech*. 2009 Aug;28(2):481-6.
8. Disponible en internet: <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b->



- [9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx](http://9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx)
9. Disponible en internet: <http://www.fao.org/statistics/es/>
  10. Humans and Cattle: A Review of Bovine Zoonoses Clinton J. McDaniel, Diana M. Cardwell, Robert B. Moeller, Jr., Gregory C. Gray Vector Borne Zoonotic Dis. 2014 January 1; 14(1): 1–19.
  11. Uddin Khan S, Atanasova KR, Krueger WS, Ramirez A, Gray GC. Epidemiology, geographical distribution, and economic consequences of swine zoonoses: a narrative review. Emerg Microbes Infect. 2013 Dec;2(12):e92.
  12. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. Clin Microbiol Rev. 2014 Jan; 27(1):116-38.

## **PATÓGENOS EMERGENTES: *Anaplasma spp*, *Babesia spp* Y *Ehrlichia spp*, UNA AMENAZA REAL**

Bárbara Julia Arroyo Salgado

Bacterióloga, Magíster en Microbiología. Candidata PhD. Ciencias Biomédicas.  
Universidad de Cartagena. Colombia.

Un sin número de microorganismos han sido relacionados con zoonosis transmitidas por vectores artrópodos, destacándose los géneros tales como *Babesia spp*, *Borrelia spp*, *Ehrlichia spp*, *Anaplasma spp*, *Francisella spp*, *Coxiella spp* y *Rickettsia spp*. Estos microorganismos son agentes zoonóticos transmitidos por garrapatas de animales que están relacionados de manera directa con factores ambientales asociados a la pobreza, el hacinamiento y la falta de higiene (Sambri et al., 2004).

En su mayoría éstas zoonosis presentan síntomas sistémicos inespecíficos que suelen pasar desapercibidos, aunque pueden causar deterioro progresivo en la salud de los infectados, sí el diagnóstico y el tratamiento no se realizan en el momento oportuno (Ríos et al., 2011).

Una gran parte de las enfermedades zoonóticas hoy en día se extienden ampliamente; se estima que sólo en los Estados Unidos anualmente alrededor de cuatro millones de personas presentan alguna de estas zoonosis, constituyéndose en un problema de salud pública, con un alto costo económico para los sistemas de salud (Baneth, 2014).

Las enfermedades infecciosas emergentes constituyen una amenaza a la salud pública y animal, la economía mundial y la estabilidad social y política. El cambio climático, los cambios ambientales, cambios demográficos y comportamientos humanos, y el aumento del comercio mundial y los viajes son los conductores más frecuentemente citadas para la aparición de enfermedades infecciosas en las poblaciones humanas y animales (Reperant, 2010).

Para los países tropicales en vías de desarrollo, como Colombia, existen condiciones favorables para la aparición y mayor incidencia de enfermedades transmitidas por vectores y causadas por agentes infecciosos. La migración de poblaciones humanas hacia ecosistemas no habituales, la extensa explotación de

los recursos naturales y la inestabilidad social, aumentan las probabilidades de infección del ser humano dada su interacción con los reservorios y los vectores de los agentes infecciosos. Así mismo, la variación del clima global y la modificación del régimen de aguas contribuyen a la propagación de este tipo de zoonosis (Monsalve et al., 2009).

A pesar de la evidente aparición en Colombia de casos, no existe un registro actualizado de estas zoonosis, debido a que no son enfermedades de notificación obligatoria en nuestro país (Ríos et al., 2011).

Enfermedades emergentes, tales como la anaplasmosis y la ehrlichiosis son causadas por bacterias Gram negativas intracelulares obligadas del orden Rickettsiales (Parola and Raoult, 2001).

Entre los agentes más comunes de ehrlichiosis humana se incluyen *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* y *Ehrlichia ewingii*. Dos entidades clínicas han sido descritas: Anaplasmosis granulocítica humana (HGA) y Ehrlichiosis monocítica humana (HME) (St. Clair and Decker, 2012). Por otro lado, la babesiosis es una enfermedad causada por el protozoo (esporozoos) *Babesia microti*, la cual es transmitida por la garrapata, *Ixodes scapularis* (Kavanaugh and Decker, 2012).

A pesar de los avances en el diagnóstico de laboratorio, frecuentemente en nuestro país para este tipo de microorganismos es utilizada la tinción de Wright o Giemsa (frotis de sangre periférica en los pacientes infectados) y la detección serológica de anticuerpos (IgM e IgG) en el suero del paciente por la técnica de Inmunofluorescencia indirecta. Las anteriores pruebas en la actualidad son a menudo difíciles de interpretar y, por otra parte, los anticuerpos contra los patógenos persisten durante mucho tiempo por lo que es difícil confirmar la curación de la enfermedad.

Los ácidos nucleicos de los patógenos no persisten después de la curación, por lo que, las pruebas diagnósticas basadas en detección del ácido desoxirribonucleico (ADN) del patógeno son útiles para la detección temprana de la enfermedad infecciosa (Chan et al., 2013). Es así como, la técnica diagnóstica más práctica para confirmar el diagnóstico clínico de dichas infecciones, corresponde a la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR); su sensibilidad es relativamente alta, entre 67% y 90% y detecta la infección en las etapas tempranas cuando los niveles de anticuerpos son indetectables (Dumler et al., 2007), a pesar de su inaccesibilidad para los laboratorios, lo cual limita el diagnóstico exacto de estas zoonosis.

Actualmente existe una acentuada preocupación por la creciente presencia de las anteriores enfermedades infecciosas, que han sido catalogadas como emergentes (Vannier and Krause, 2012). Se estima que alrededor de 1.415 microorganismos son patógenos para el hombre; de ellos, entre el 61-65% son de origen animal y de estos más del 12% son productores de zoonosis emergentes (Taylor et al., 2001).

En Colombia hay pocos datos respecto a las enfermedades tales como la ehrlichiosis, anaplasmosis, babesiosis, debido al subregistro en el diagnóstico común a muchas entidades similares, que comparten la sintomatología clínica. No obstante, han sido publicados algunos estudios, con la intención de estimar la prevalencia real.

En el Caribe colombiano, muestras de trabajadores del campo en los departamentos de Córdoba y Sucre se analizaron para la detección de anticuerpos IgG (IFI) contra antígenos de *Bartonella* spp, *Anaplasma phagocytophilum* and *Coxiella burnetii*. Solo el 56.8% presentaron anticuerpos contra alguna de las bacterias y alrededor del 20% correspondió a *Anaplasma phagocytophilum* (Mátar and Parra, 2006). De la misma forma, Montes-Farah et al. (2012), han reportado co-infecciones entre babesiosis y ehrlichiosis en el departamento de Bolívar.

Sin embargo, todavía a nivel nacional, existe desconocimiento acerca de la prevalencia de entidades infecciosas causadas por *Babesia* spp, *Anaplasma* spp y *Ehrlichia* spp; tampoco hay una delimitación de las zonas de mayor riesgo demográfico, el curso patogénico, las manifestaciones clínicas y las complicaciones que acarrear las mismas. Estas situaciones, probablemente se ven favorecidas por factores como desconocimiento del personal de salud de los métodos de diagnóstico, la inadecuada red de laboratorios de zoonosis que perpetúa la inapropiada confirmación de estas patologías y la incorrecta recolección de información. Todas estas situaciones provocan las silentes condiciones de morbimortalidad que estas acarrear en la región Caribe.

Por lo anterior, evidentemente el deterioro de la atención básica primaria en salud, concomitante con la disminución de hospitales regionales que ofrezcan servicios de diagnóstico para establecer la etiología del agente causal; se suma la carencia de medicina basada en la evidencia para causar finalmente un subregistro de dichos casos zoonóticos en varias regiones de la Costa Caribe.

Es así, como datos aislados, soportan la existencia de infecciones transmitidas por garrapatas en la región caribe colombiana. Pero aún el diagnóstico molecular de las mismas es desconocido. En orden a lo anterior, y con el fin de lograr acercamientos de la medicina humana y veterinaria para conocer y controlar problemas de salud, analizaremos los resultados de un estudio cuyo objetivo fue la caracterización por detección microbiológica y molecular, de la presencia de patógenos emergentes *Anaplasma* spp, *Ehrlichia* spp y *Babesia* spp, causantes de zoonosis en pacientes febriles en nuestra región.

## Bibliografía

1. Sambri, V., Marangoni, A., Storni, E., Cavrini, F., Moroni, A., Sparacino, M., Cevenini, R., Tick borne zoonosis: selected clinical and diagnostic aspects. *Parassitologia* 2004. 46, 109-113.

2. Ríos, R., Franco, S., Mattar, S., Urrea, M., Tique, V.,. Seroprevalencia de *Leptospira* sp., *Rickettsia* sp. y *Ehrlichia* sp. en trabajadores rurales del departamento de Sucre, Colombia. *Infectio* .2008. Vol 12, 318-323.
3. Baneth, G., Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. *International Journal for Parasitology*. 2014. 44, 591–596
4. Monsalve, S., Mattar, S., González, M., 2009. Zoonosis transmitidas por animales silvestres y su impacto en las enfermedades emergentes y reemergentes. *Revista MVZ Córdoba* 14,1762-1773.
5. Parola, P., Raoult, D., Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical infectious diseases*. 2001b. 32, 897- 928.
6. St. Clair, K., Decker, C.F.,. Ehrlichioses: Anaplasmosis and Human Ehrlichiosis. *Disease-a-month* : DM. 2012. 58, 346-354.
7. Kavanaugh, M.J., Decker, C.F., Babesiosis. *Disease-a-month* : DM 58, 2012. 355- 360.
8. Chan, K., Marras, S.A., Parveen, N., Sensitive multiplex PCR assay to differentiate Lyme spirochetes and emerging pathogens *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*. *BMC microbiology* 2013. 13, 295.
9. Dumler, J.S., Madigan, J.E., Pusterla, N., Bakken, J.S., Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 45 Suppl 1, S45-51. 2007b.
10. Vannier, E., Gewurz, B.E., Krause, P.J., Human babesiosis. *Infectious disease clinics of North America* 22. 2008. 469-488, viii-ix.
11. Taylor, L.H., Latham, S.M., Woolhouse, M.E., Risk factors for human disease emergence. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. 2001. 356, 983-989.
12. Reperant, L.A., Applying the theory of island biogeography to emerging pathogens: toward predicting the sources of future emerging zoonotic and vector-borne diseases. *Vector borne and zoonotic diseases* 2010. 10, 105-110.
13. Máttar, S., Parra, M., Detection of antibodies to anaplasma, bartonella and coxiella in rural inhabitants of the Caribbean area of Colombia. *Rev MVZ Córdoba*. 2006. 11, 781–789.
14. Montes-Farah, J., De la Vega-Del Risco, F., Bello-Espinosa, A., Coinfección de babesiosis y ehrlichiosis: un caso en Cartagena de Indias, Colombia\*. *Revista Ciencias Biomédicas*. 2012. 3, 339-345.

## LA CRISIS CONVULSIVA DE APARICIÓN TARDÍA ASOCIADA A NEUROCISTICERCOSIS - NCC

Julio Cesar Giraldo Forero

Biólogo, Magíster en Biología. Universidad INCCA de Colombia - Programa Profesional  
de Biología

El Complejo Teniosis/Cisticercosis es una zoonosis de amplia distribución geográfica que se caracteriza porque involucra al hombre como huésped definitivo del estadio adulto de la *Taenia solium* o lombriz solitaria y al cerdo como huésped intermediario de la fase larval o cisticerco en el ciclo natural; accidentalmente el hombre puede actuar como huésped intermediario y cursar una enfermedad severa denominada Neurocisticercosis-NCC. La NCC es la enfermedad parasitaria más frecuente del Sistema Nervioso Central (SNC); se estima que afecta del 2 al 4% de la población en general de las áreas endémicas. La cisticercosis humana se adquiere al ingestar los huevos del parásito que proceden de una persona portadora

de la fase adulta, la cual los elimina en la materia fecal, para posteriormente transmitirse vía oral.

La Neurocisticercosis-NCC es una de las enfermedades del sistema nervioso central de origen parasitario que genera una alta morbilidad y ocasiona sobre todo epilepsia crónica causada por los metacéstodos o cisticercos. La NCC es endémica en varias regiones del mundo, principalmente en países en vía de desarrollo, en especial de América Latina, Asia y África. La parasitosis puede cursar en algunas personas totalmente asintomáticas y tiene buen pronóstico si es tratada a tiempo. El rango de edad donde se ha identificado la aparición de ésta, con mayor frecuencia comprende los 15 a 43 años. En ciertas áreas endémicas predomina la parasitosis en el género masculino pero en general no existe prelación por ninguno de los dos sexos, la estratificación social más afectada es aquella que no tiene cubierta y sus necesidades básicas no están satisfechas y vive en condición de pobreza (1-4).

El período prepatente de esta parasitosis puede oscilar entre seis meses a diez años ya que las manifestaciones clínicas están sujetas a varios factores como respuesta inmunitaria, número de parásitos, localización de las larvas y estadio de desarrollo de las mismas, lo que hace que se dificulte su diagnóstico. Las áreas endémicas donde se presenta el complejo Teniosis/Cisticercosis tienen en común la crianza de cerdos en condiciones no tecnificadas o traspatio, fecalismo al aire libre, fallas en el saneamiento ambiental y malos hábitos higiénicos personales.(5) Los cisticercos vivos en una NCC activa, desarrollan mecanismos de evasión de los anticuerpos específicos, con la generación de moléculas inmunosupresoras y de enmascaramiento de las inmunoglobulinas. En el transcurso de la parasitosis los cisticercos varían de acuerdo a su localización en el SNC, siendo tres fases las que se pueden apreciar en el curso de la parasitosis: 1. Cisticercos viables: formas vesiculares de 10mm de longitud aproximadamente y localizados generalmente en áreas de gran vascularización como la sustancia gris de la corteza cerebral y los núcleos subcorticales, 2. Formas coloidales “diseminadas” y 3. Forma Nodular calcificada “diseminadas” (5-6).

En ocasiones se presentan cisticercos en cisternas subaracnoideas de gran tamaño que pueden superar los 5cm, se caracterizan por carecer de escólex y presentar varias membranas de lo cual se deriva su nombre de forma racemosa y se cree que son formas que se dan por degeneración genética de una forma vesicular. Generalmente estos casos suelen ser únicos en el paciente pero pueden producir gran sintomatología dependiendo de su localización, una de las cuales puede ser, atadas al plexo coroideo o flotando libremente y allí obstaculizando el paso del líquido cefalorraquídeo-LCR y por ende produciendo ependimitis granular, hidrocefalia y lesiones ventriculares (1, 6-7).

Para las formas vesiculares y nodulares calcificadas, las localizaciones de mayor probabilidad son el globo ocular, región selar, parénquima cerebral, médula espinal,

espacio subdural, entre otras. Los cisticercos en estado vesicular inducen una reacción inflamatoria leve en el tejido circundante, seguido del estado coloidal, que es indicador de la acción del tratamiento con un cisticida o la respuesta inmunológica del huésped. Luego se transforma en un cisticerco no viable en estado granular nodular y finalmente se convierte en estado calcificado (8).

### **Sintomatología Asociada a NCC**

La NCC en algunos casos es asintomática cuando el número de parásitos es bajo, pero suele ser perjudicial algunas veces independientemente del número, éstos se alojan en el sistema ventricular del encéfalo y bloquean la circulación de LCR o cuando se desarrollan en la región subaracnoidea basal y generan una reacción inflamatoria que secuestran vasos linfáticos y nerviosos. La inflamación de las meninges por cisticercos meníngeos, produce un engrosamiento de las leptomeninges y dificultad para la absorción del LCR e hidrocefalia; esta situación puede afectar los pares craneales, el quiasma óptico, los vasos del polígono de Willis produciendo infartos cerebrales. Existen casos en los que la sintomatología es mínima por lo que en éstos, no se diagnostica dado a que los pacientes no acuden a consulta médica. El 65% de los casos ya diagnosticados cursan con crisis convulsivas de aparición tardía, una de las muchas manifestaciones de la epilepsia, estas convulsiones son generalizadas de tipo tónico-clónicas, Otras formas de padecimiento de la NCC es un cuadro sintomatológico pleomórfico que va desde cefalea crónica hasta hidrocefalia por aracnoiditis meníngea, lo que dificulta el diagnóstico y estará determinado por condiciones como: 1. Localización tópica de los cisticercos, los cuales pueden estar confinados a espacios subaracnoideos (forma meníngea), ventricular (forma ventricular) siendo el IV ventrículo el de mayor frecuencia, en parénquima cerebral y médula espinal (forma parenquimatosa) y localizaciones mixtas. 2. Número de cisticercos: pueden ser únicos y esta condición es más frecuente en niños, en tanto que la presencia de múltiples cisticercos se aprecia comúnmente en personas adultas. 3. Grado y tipo de inflamación del tejido del huésped donde se hallan localizados los parásitos. 4. Estado biológico del parásito: pueden ser formas vesiculares, formas coloidales, racemosas todas ellas activas, calcificadas o inactivas. 5. Estructuras del SN afectadas (1-2, 5, 7-9).

### **Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones clínicas pueden variar dependiendo de la etapa de vida en que se presente la parasitosis, siendo la crisis convulsiva, la manifestación más frecuente como primer síntoma neurológico en el 94% de los casos en niños, las que pueden ser tipo Crisis parciales focalizadas, Crisis parciales que se generalizan secundariamente, Crisis generalizadas primariamente tónico-clónicas y además pueden estar acompañadas de cefalea, vómito, trastornos de aprendizaje, cambios conductuales, parálisis de nervios craneales, encefalitis, fiebre, náusea, coma, irritabilidad y somnolencia, entre otras. De igual manera, se puede presentar Síndrome de compresión medular (Síndrome de motoneurona inferior), Meningitis

crónica y rara vez se observan Hipertensión endocraneana o signos de focalización. En las personas adultas las manifestaciones neurológicas más comunes son Cefalea, Hipertensión endocraneana, Crisis epilépticas de comienzo tardío, Meningitis, Trastornos psiquiátricos, Conducta violenta, Depresión, Ansiedad, Demencia, Psicosis, Problemas visuales, Parálisis facial, Monoparesia, Letargia, Hemiplejía, Deterioro mental y del lenguaje, acompañada generalmente de Náuseas, Vómito, Problemas de atención y Anormalidades observables en el Electroencefalograma-EEG (5-7, 9-10).

### **Diagnóstico para NCC**

Para hacer el diagnóstico de Neurocisticercosis se deben tener en cuenta elementos relevantes como: Antecedentes epidemiológicos, Manifestaciones clínicas, Presencia de anticuerpos en sangre o líquido cefalorraquídeo y Estudios de imagenología como TAC o RM. (1)

### **Empleo técnicas de imagenología**

Se diagnostica por medio de Resonancia Magnética-RM o Tomografía Axial Computarizada-TAC, los cuales tienen buena confiabilidad. Estas técnicas permiten confirmar la etiología y definir el número, localización, estado y extensión de las lesiones. La TAC tiene la capacidad de identificar una lesión parenquimatosa con edema peri-lesional única en niños y múltiple en adulto; la RM es ideal para observar quistes intraventriculares y de médula espinal porque resalta las membranas del quiste. El signo patognomónico de mayor valor es la observación del escólex, imágenes redondeadas hipointensas en T1 e hiperintensas en T2 bien delimitadas del parénquima cerebral. La dilatación ventricular por un cisticerco en el conducto de Silvio se observa más frecuentemente en adultos y niños mayores de 10 años. La radiografía de rayos X-RX no tiene utilidad diagnóstica, pero puede utilizarse para observar las calcificaciones de la Neurocisticercosis crónica (1-2, 5-7).

### **Empleo de técnicas serológicas**

Otra opción de diagnóstico son los métodos inmunológicos, entre estos los más confiables son: la Inmunolectrotransferencia-EITB la cual tiene una especificidad del 100% y la Enzyme-Linked Immunosorbent Assay-ELISA en placa del 95%, la cual es una buena herramienta para estudios seroepidemiológicos. El EITB es actualmente el más adecuado para el diagnóstico de Neurocisticercosis con una sensibilidad de 90-100%; sin embargo, un examen negativo no excluye el diagnóstico (sobre todo cuando la lesión es única o la reacción inflamatoria está ausente). Los antígenos más frecuentemente encontrados son Glicoproteínas-GP, entre las cuales tienen relevancia diagnóstica GP3, GP14, GP24, GP39 y GP42 (10, 12).

## Tratamiento para NCC

La diversidad de manifestaciones clínicas, localización y la viabilidad de los cisticercos para la NCC, dificulta que se aplique un solo esquema de tratamiento, o que el mismo sea útil para todos los casos, lo que hace que necesariamente se individualice el tratamiento y se opte por el más adecuado según el caso. Los medicamentos cesticidas de elección para el tratamiento de NCC son: Praziquantel 45 a 50mg/k de peso dividido en tres tomas durante 15 días y Albendazol 15mg/k repartido en tres tomas, durante ocho días. Éstos son útiles en casos de cisticercos vivos y cuando hay sintomatología originada en parénquima cerebral y espacio subaracnoideo no basal. En caso que los cisticercos tengan localización ventricular u ocular se recomienda ser extraídos quirúrgicamente. Se recomienda acompañar los tratamientos con corticoides, esteroides y anticonvulsivantes (13).

## Control de NCC

La Organización Mundial de la Salud-OMS manifiesta que el complejo Teniosis/Cisticercosis es una parasitosis potencialmente erradicable por razones como: 1. Su ciclo biológico requiere del ser humano como huésped definitivo para la adquisición de las teniasis humanas y la única fuente de infestación es el suido, 2. Se puede disminuir la transmisión del parásito de los cerdos a las personas, este único animal doméstico que puede ser parasitado con el estado larval. De igual manera la OMS recomienda para el control de la Cisticercosis tener en cuenta aspectos como: Tratamiento, notificación y vigilancia de los casos NCC humana; Identificación y tratamiento de los individuos teniásicos que son fuente directa de contagio; Educación en materia de higiene y mejora del saneamiento ambiental, tratamiento profiláctico, más otras medidas veterinarias en la inspección y control de la cría de cerdos; Educación a las comunidades en las áreas endémicas (1,3, 10,12).

## Bibliografía

1. Flisser A, Sarti E, Lightowers M. Neurocysticercosis. Regional status, epidemiology, impact and control measures in the Americas. *Acta Trop.* 2003; 87: 43-51.
2. Del Brutto O. H. Neurocysticercosis. *Rev Neurol.* 1999; 29:4 56-466.
3. Vásquez L, Giraldo J, Agudelo P, Campo V, Vergara D. Experiencia para el control de la cisticercosis en el departamento del Cauca. *Biomédica.* 2011; 31(3), 300-305.
4. Rajshekhar V, Joshi DD, Doanh NQ. *Taenia solium* taeniosis/cysticercosis in Asia: epidemiology, impact and issues. *Acta Trop.* 2003; 87: 53-60.
5. Takayanagui OM, Odashima NS. Clinical aspects of neurocysticercosis. *Parasitol Int.* 2006; 55 (suppl): S111-S115.
6. García HH, Del Brutto OH. Cysticercosis Working Group in Peru. Neurocysticercosis: updated concepts about an old disease. *Lancet Neurol.* 2005; 4: 653-661.
7. Garg RK. Neurocysticercosis: A Pictorial Review. *Infectious Diseases in Clinical Practice.* 2008; 16: 4: 210-217.
8. 2008; 16: 4: 210-217.
9. García HH, Del Brutto OH. *Taenia solium* cysticercosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2000; 14: 97-119.
10. Colli BO, Valencia MM, Carlotti CG Jr. Spinal cord cysticercosis: neurosurgical aspects.
11. *Neurosurg Focus.* 2002; 12-19.



12. Franco C, Giraldo J, Vásquez R. Detección de anticuerpos anticisticerco en pacientes que asistieron a consulta médica durante el periodo 2009 a la Liga Contra la Epilepsia. Capitulo Cauca, Revista UNINCCA. 2012; 79-93.
13. Paterakis KN, Kapsalaki E, Hadjigeorgiou GM. Primary spinal intradural extramedullary cysticercosis. Surg Neurol. 2007; 68: 309-311.
14. Flórez A, PA, Salamanca L, Pastrán S, Vargas N, Beltrán M, Enríquez Y, et al. Cisticercosis en Colombia. Estudio de seroprevalencia 2008-2010. Acta Neural Colomb. 2013; 29(2), 73-85.
15. Del Brutto OH, Roos KL, Coffey CS. Metaanalysis: cysticidal drugs for neurocysticercosis: albendazole and praziquantel. Ann Intern Med. 2006; 145: 43-51.