

Revista Latinoamericana de

Patología Clínica

MEDICINA DE LABORATORIO

Volumen 59, Número 4 / Octubre-Diciembre 2012

Editoriales

XXI Congreso Latinoamericano
de Patología Clínica, Cancún 2012

Escribir y publicar, para trascender y perdurar

Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre

Modificación de los indicadores de la fatiga utilizando
malato de citrulina para deportistas de alto rendimiento

Actividad desoxirribonucleasa (ADNasa)
en un aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans*

Detección de autoanticuerpos en el diagnóstico precoz
y pronóstico de la artritis de reciente comienzo

Procedimiento de hemovigilancia en la práctica clínica
complementaria de médicos residentes en Patología Clínica

Hormona de la oscuridad

Comparación de dos nuevas técnicas de sedimentación
y métodos convencionales para la recuperación
de parásitos intestinales

Determinación de los intervalos de referencia
de biometría hemática en población mexicana

Órgano Oficial:

Asociación Latinoamericana de
Patología Clínica/Medicina
de Laboratorio (ALAPAC/ML)

Federación Mexicana de
Patología Clínica (FEMPAC)



Disponible en versión completa en:

www.medigraphic.com/patologiaclinica

4

Revista Latinoamericana de
Patología Clínica
MEDICINA DE LABORATORIO

ÍNDICE

Editoriales

- 184 XXI Congreso Latinoamericano de Patología Clínica, Cancún 2012**
José Luis Hernández Montiel
- 185 Escribir y publicar, para trascender y perdurar**
Enrique Navarrete Cadena
- 186 Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre**
Pedro Sánchez Frenes, María de Jesús Sánchez Bouza, Sara Hernández Malpica
- 194 Modificación de los indicadores de la fatiga utilizando malato de citrulina para deportistas de alto rendimiento**
JA López-Cabral, A Rivera-Cisneros, H Rodríguez-Camacho, JM Sánchez-González, I Serna-Sánchez, M Trejo-Trejo
- 202 Actividad desoxirribonucleasa (ADNasa) en un aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans***
José Antonio Rivera-Tapia, Edith Chávez-Bravo, Nancy Lara-Sánchez, Fernando Hernández-Aldana, Nadia Rodríguez-Preval
- 207 Detección de autoanticuerpos en el diagnóstico precoz y pronóstico de la artritis de reciente comienzo**
Ramón Suárez Zaldu, Alicia Ramagli, Fany Duran, Andrea Torrens, Silvia López
- 212 Procedimiento de hemovigilancia en la práctica clínica complementaria de médicos residentes en Patología Clínica**
Joel Sánchez Garduño, Rosa María García Escamilla, René Rosiles Martínez
- 222 Hormona de la oscuridad**
Bárbara Martínez Hiriart, Yanelis Sánchez Morffiz, Kenia Urra Torres, Yanisleisy Daymara Thomas Michell, Jorge Luis Burgos Sosa
- 233 Comparación de dos nuevas técnicas de sedimentación y métodos convencionales para la recuperación de parásitos intestinales**
José Manuel Aquino Mariano, Gie Bele Vargas Sánchez, Briceida López Martínez, Enrique Neri Spinola, Rosamaría Bernal Redondo
- 243 Determinación de los intervalos de referencia de biometría hemática en población mexicana**
Pablo Díaz Piedra, Gabriela Olay Fuentes, Ricardo Hernández Gómez, R Daniel Cervantes-Villagrana, José Miguel Presno-Bernal, Luz Elena Alcántara Gómez

CONTENTS

Editorials

- 184 21st Latin American Congress of Clinical Pathology, Cancun 2012**
José Luis Hernández Montiel
- 185 Write and publish to transcend and endure**
Enrique Navarrete Cadena
- 186 Infectious diseases and blood transfusion**
Pedro Sánchez Frenes, María de Jesús Sánchez Bouza, Sara Hernández Malpica
- 194 Modification of fatigue indicators using citrulline malate for high performance endurance athletes**
JA López-Cabral, A Rivera-Cisneros, H Rodríguez-Camacho, JM Sánchez-González, I Serna-Sánchez, M Trejo-Trejo
- 202 Deoxyribonuclease activity (DNase activity) in clinical *Mycoplasma fermentans* isolate**
José Antonio Rivera-Tapia, Edith Chávez-Bravo, Nancy Lara-Sánchez, Fernando Hernández-Aldana, Nadia Rodríguez-Preval
- 207 Detection of autoantibodies in the early diagnosis and prognosis of arthritis of recent beginning**
Ramón Suárez Zaldu, Alicia Ramagli, Fany Duran, Andrea Torrens, Silvia López
- 212 Hemovigilance procedures in the complementary clinical practice of residents in clinical pathology**
Joel Sánchez Garduño, Rosa María García Escamilla, René Rosiles Martínez
- 222 Hormone of darkness**
Bárbara Martínez Hiriart, Yanelis Sánchez Morffiz, Kenia Urra Torres, Yanisleisy Daymara Thomas Michell, Jorge Luis Burgos Sosa
- 233 Comparison of two new sedimentation techniques and conventional methods for the recuperation of intestinal parasites**
José Manuel Aquino Mariano, Gie Bele Vargas Sánchez, Briceida López Martínez, Enrique Neri Spinola, Rosamaría Bernal Redondo
- 243 Determination of reference intervals clinical blood count in the Mexican population**
Pablo Díaz Piedra, Gabriela Olay Fuentes, Ricardo Hernández Gómez, R Daniel Cervantes-Villagrana, José Miguel Presno-Bernal, Luz Elena Alcántara Gómez

Revista Latinoamericana de **Patología Clínica** MEDICINA DE LABORATORIO

DIRECTORIO

Editor: Enrique Navarrete Cadena
Coeditor: Arturo M. Terrés Speziale

COMITÉ EDITORIAL

Área de Bacteriología

Dra. Silvia Giono Cerezo

Investigador Titular. SNI: Nivel I. Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México, D.F.

Área de Banco de Sangre y Medicina Transfusional

Dr. Héctor Rodríguez-Moyado

Ex-Director del Banco Central de Sangre CMN Siglo XXI, IMSS. Miembro Honorario de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C.

Miembro Titular de la Asociación Mexicana para el Estudio de la Hematología, México, D.F.

Área de Inmunología

Dr. Fernando Antonio Santoscoy Tovar

Jefe del Área de Laboratorio y del Departamento de Microbiología: Bacteriología, Micología, Parasitología y Virología, Unidad de Patología Clínica, Guadalajara, Jalisco, México. Miembro e Inspector del College of American Pathologists (CAP). Miembro de la American Society for Microbiology, de la American Society for Clinical Pathology y de la Clinical Ligand Assay Society.

Área de Hematología

Dra. Blanca Stéfano de Perdomo

Doctor en Medicina, DM, Postgrado en Patología Clínica. Coordinadora del Comité de Expertos de Normalización y Control de Calidad en Hemostasis y Trombosis del Grupo Latinoamericano de Hemostasis y Trombosis (CLAHT). Coordinadora del Programa Nacional Uruguayo de Evaluación Externa de Calidad en Hematología (CECC). Director Técnico del Centro de Estudios e Investigación de Hemostasis y Trombosis (Laboratorio HYGEA, Montevideo, Uruguay).

Área de Bioética y Normativa

Dr. Eduardo García Solís

Médico, Patólogo Clínico, Diplomado en Inmunología Clínica. Director Operativo de la Comisión de Bioética del Estado de Campeche. Académico Numerario de la Academia Nacional de Investigación Clínica. Miembro de la Asociación Mexicana de Medicina Interna, Capítulo Campeche. Miembro de la Sociedad Yucateca de Cardiología. Miembro del Colegio Médico de Campeche, México.

Dr. Jorge Manuel Sánchez González

Médico, Patólogo Clínico, Acad. de la Academia Nacional de Cirugía.

Área de Genética Médica

Dr. Fabio Salamanca Gómez

Médico Genetista, Coeditor de Archives of Medical Research y de Gaceta Médica de México. Profesor Titular de Cursos de Genética en la UNAM y en varias universidades más. Miembro Numerario de la Academia Nacional

de Medicina, la Academia Mexicana de Ciencias, la Academia Mexicana de Cirugía y la Academia Mexicana de Pediatría. Coordinador de Investigación en Salud, IMSS, México.

Área de Infectología

Dr. Gustavo Barriga Angulo

Jefe de Laboratorio del Hospital de Infectología, Centro Médico «La Raza», Instituto Mexicano del Seguro Social, D.F., México.

Área de Micología Médica

Dr. Arturo Rubén López Martínez

Profesor Titular C de Tiempo Completo. Médico Cirujano, Doctorado en Ciencias Biomédicas. Nivel de Sistema Nacional de Investigadores II. Jefe del Laboratorio de Micología Médica, Facultad de Medicina, UNAM, D.F. México.

Área de Parasitología Médica

Dr. Werner Apt Baruch

Departamento de Medicina Interna-Gastroenterología. Especialidad en Parasitología. Presidente de la Sociedad Chilena de Parasitología (SOCHIPA). Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Campus Sur, Santiago de Chile, Chile.

Dr. Raúl Romero Cabello

Médico Infectólogo del Hospital General de México, Profesor Titular de Parasitología y Micología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Miembro de 20 asociaciones médicas, nacionales e internacionales, de Pediatría, Infectología y Parasitología. Ex-Presidente de la Sociedad Mexicana de Parasitología y de la Federación Latinoamericana de Parasitología.

Área de Bioquímica Clínica

Dr. José Roberto Barba Evia

Médico Especialista en Patología Clínica. Subdirector de Auxiliares de Diagnóstico, Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, IMSS. Profesor de la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Yucatán y de la Universidad Anáhuac Mayab, de las cátedras de Patología Clínica, Parasitología Médica y Hematología Clínica.

Área de Gestión de Calidad

Dr. Alberto Zamora Palma

Médico Especialista en Patología Clínica. Experto en Sistemas de Gestión de la Calidad, UNAM. Miembro del College of American Pathologists Standards (CAP), Estándares de la Joint Commission International.

Dr. Arturo Manlio Terrés Speziale

Médico Especialista en Patología Clínica, con estudios de postgrado revalidados ante el National Board of Medical Examiners de los EUA. Diplomados en Administración Estratégica de Servicios de Salud, Aseguramiento y Acreditación de la Calidad (JCAH), Bioestadística Avanzada Six Sigma, Reingeniería de Sistemas, Control de Calidad Analítica, Informática y Telemática, entre otros.



ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN
MEXICANA DE PATOLOGÍA CLÍNICA
(FEMPAC)

ÓRGANO OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN
LATINOAMERICANA DE PATOLOGÍA CLÍNICA/MEDICINA
DE LABORATORIO (ALAPAC/ML)

AGRUPACIONES DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y DIRECTIVAS ACTUALES:

Mesa Directiva de la Federación Mexicana de Patología Clínica (FEMPAC): 2010-2012

Presidente: Dr. José Luis Hernández Montiel
Vicepresidente: Dr. Jorge Manuel Olmedo Castillo
Secretario-tesorero: Dra. Lourdes Barba Villavicencio

Agrupaciones integrantes de FEMPAC

Asociación Mexicana de Patología Clínica, A.C.
Presidente: Dr. Manuel Canseco Álvarez
Asociación Oaxaqueña de Patología Clínica.
Presidente: Dr. Sergio Sierra Carmona
Colegio de Médicos Patólogos Clínicos de Jalisco, A.C.
Presidente: Dr. David Carrero Domínguez
Colegio de Patólogos Clínicos del Centro de la República Mexicana, A.C.
Presidente: Dr. Rafael Franco Santillán
Colegio Médico de Patólogos Clínicos del Noreste de México.
Presidenta: Dra. Ana Cecilia Pruneda Santoy
Colegio Poblano de Patología Clínica, A.C.
Presidenta: Dra. María de los Ángeles Pavón Vargas
Colegio Médico de Patólogos Clínicos de Veracruz.
Presidente: Dr. Álvaro Machorro Castaños

La Federación Mexicana de Patología Clínica es miembro de la Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio (ALAPAC/ML), y de la World Association of Societies of Pathology (Anatomic and Clinical) [WASPaLM].

Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio Junta Directiva 2010-2012

Presidente: Dr. Guillermo Aguilar Arenas (México)
Presidente Alterno: Dr. Walter Alallón (Uruguay)
Secretario Permanente: Dr. José Carreón Moldiz (Bolivia)
Secretario: Dr. Luis Antonio Angulo Ramírez (México)
Secretario Alterno: Dr. Miguel Ángel Reyes González (México)
Tesorero: Dr. José Luis Hernández Montiel (México)

Vicepresidencias

Actividades Gremiales y Coordinación: Dr. Pedro Cladera (Uruguay)
Control de Calidad: Dr. Klever Sáenz Flor (Ecuador)
Acreditación: Dr. Edgar Muñoz Atahallpa (Perú)
Relaciones Industriales: Dr. José León Vega (Perú)
Planes Futuros: Dr. Julio Sempértegui Vega (Ecuador)
Actividades Científicas y Educación: Dra. Rosa María García Escamilla (México)
Relaciones Internacionales: Dr. Enrique Abraham Marcel (Cuba)
Editor de la Revista Patología Clínica: Dr. Enrique Navarrete Cadena (México)
Representante ante WASPaLM: Dr. Murilo Rezende Melo (Brasil)

Directiva de la World Association of Societies of Pathology & Laboratory Medicine 2011-2013

Presidente: Gamze Mocan Kuzey (Turquía)
Secretario Tesorero: Jagdish Butany (Canadá)
Presidente Electo: Lai-Meng Looi (Malasia)
Ex presidente: Michael Oellerich (Alemania)
Director General de Latinoamérica: Murilo Melo (Brasil)
Director General de Norteamérica: Fred Rodríguez (Estados Unidos)
Director Adicional: Roberto Ruiz Arenas (México)

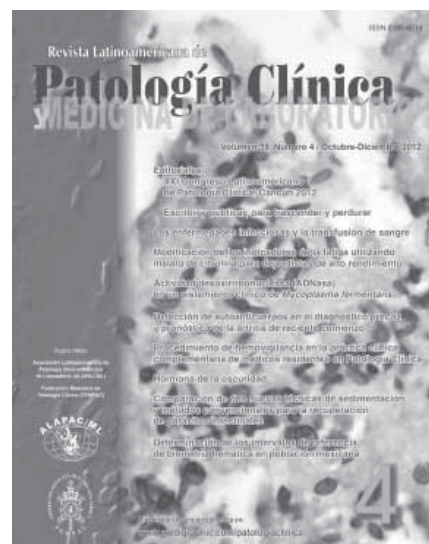


Imagen de la portada: Corte histológico de un testículo de ratón, inoculado con *Sporothrix schenckii*. Se ven levaduras abundantes, teñidas de color rojo magenta con múltiples formas: redondeadas, ovoides, naviculares y de un «puro habanero». Tinción PAS, 1,350X. Imagen publicada en la pág. 158 del número 3, julio-septiembre de 2012, en el artículo *Esporotricosis* del Dr. Teodoro Carrada Bravo.

La Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio es el órgano oficial de difusión de la Federación Mexicana de Patología Clínica, A.C. y de la Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio. Los conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se publica trimestralmente. Suscripción anual en México \$ 400.00, para otros países US\$ 80.00. Tiraje de 2,000 ejemplares. Derechos reservados conforme a la Ley. Certificado de Licitud de Título Núm. 3023, Certificado de Licitud de Contenido Núm. 1929. Derecho de Autor Núm. 557-86. Publicación periódica. Permiso de Correos PP09-0478.

La Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio está indexada en: Medigraphic Literatura Biomédica; www.medigraphic.com/patologiaclinica, Latindex, Centro Nacional de Información y Documentación en Salud (CENIDS), PERIODICA UNAM, Anuario Bibliográfico de Investigación en Salud del IMSS (ABISA), Literatura Latinoamericana en Salud (LILACS), Centro Latinoamericano y del Caribe en Ciencias de la Salud (BIREME), São Paulo, Brasil. Toda correspondencia o remesa deberá dirigirse al Editor de la Revista: Dr. Enrique Navarrete Cadena, E-mail: revista.patologiaclinica@gmail.com

Arte, diseño, composición tipográfica, pre prensa, impresión y acabado por Graphimedic, S.A. de C.V., Tels. 8589-8527 al 31. E-mail: emyc@medigraphic.com. Impreso en México.

Disponible en versión completa en Medigraphic-Literatura Biomédica: www.medigraphic.org.mx

Editorial

XXI Congreso Latinoamericano de Patología Clínica, Cancún 2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

José Luis Hernández Montiel

Presidente 2012-2014
Federación Mexicana de Patología Clínica, A. C.

184

Estimados compañeros patólogos clínicos y congresistas que asisten al XLII Congreso Mexicano de Patología Clínica y XXI Congreso Latinoamericano de Patología Clínica, Cancún 2012.

Es para la Federación Mexicana de Patología Clínica un gran honor recibirlos en nuestro país otra vez como anfitriones del magno evento científico de la Patología Clínica Latinoamericana. Por primera ocasión para México y Latinoamérica en el paradisíaco Cancún.

Nos llena de orgullo, a la Mesa Directiva que tengo el honor de presidir y en general a todo el Comité Organizador de este congreso, el haber sido designados sede del XXI Congreso Latinoamericano de Patología Clínica para llevarse a cabo en conjunto con el congreso anual mexicano.

Contando con un destino mundialmente reconocido y admirado en el mundo como lo es Cancún, Quintana Roo, en el Caribe mexicano, se tomó la decisión de organizar este congreso por primera vez en esta ciudad. El esfuerzo que ha representado la organización de un evento de esta magnitud valdrá la pena para recibir a nuestros hermanos de la América Latina.

En lo científico se ha preparado un programa por demás interesante y variado, con la participación

de ponentes de talla mundial. Contaremos con la presencia de un panel de profesores conformado por miembros del buró de la WASPaLM, que incluye a la actual presidenta, Prof. Dra. Gamze M Kuzey, así como el expresidente de la misma asociación, Dr. Michael Oellerich. Cursos y simposios patrocinados por el congreso y casas comerciales, presentación de trabajos libres de casi todos los países miembros de ALAPAC.

La exposición tecnológica más novedosa e importante de México, con los avances de las más grandes casas proveedoras de equipos y material para laboratorio clínico. Y principalmente el calor de la hospitalidad que nos caracteriza a los mexicanos con nuestros invitados.

Sobra decir que la Riviera Maya cuenta con las mejores facilidades para el turismo tanto de placer como de negocios y congresos. Con una ubicación incomparable para la conexión entre el norte, el centro y el sur de nuestro continente. Alberga además los vestigios de una de las civilizaciones más importantes del mundo antiguo y la belleza natural del mar Caribe.

Bienvenidos a México.

Editorial

Escribir y publicar, para trascender y perdurar

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Enrique Navarrete Cadena

Editor

Además de expresarles nuestra más efusiva bienvenida al XXI Congreso Latinoamericano de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio, les invitamos a compartir la siguiente reflexión:

Tras una larga trayectoria editorial de más de tres lustros, por fin, en este 2012, nuestra publicación periódica recibe en su título la categoría de *Latinoamericana*, función que viene desempeñando desde 1994 como órgano oficial de difusión de la Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio (ALAPAC/ML). De manera progresiva, en cada número publicado se han incorporado, como autores, colegas de diversas asociaciones de países latinoamericanos. Sin embargo, se sigue requiriendo mayor participación de patólogos clínicos y profesionales afines, propios y ajenos a estas agrupaciones, del propio continente y de ultramar, que con sus escritos nos compartan conocimientos y experiencias de esta importante especialidad médica.

En la gran mayoría de escuelas y facultades de Medicina de los países latinoamericanos, no se incluye en sus planes de estudio alguna asignatura que adiestre al estudiante en el proceso de redacción de escritos para su publicación en revistas médicas. Por ésta y otras razones más, no resulta fácil para el patólogo clínico, y en general para el médico, realizar esta acción.

Una modalidad del escrito médico que hasta ahora no se ha desarrollado en nuestra publicación y que además de resultar fácil de ejercer, es muy útil, interesante y productiva, es la *Carta al Editor*, sobre todo cuando se enfoca al comentario crítico de uno o más de los escritos publicados en números anteriores. Consideramos que tanto médicos residentes, ávidos consumidores de bibliografía actualizada, como patólogos clínicos maduros, expertos en su área de especialidad, tendrán sobrados elementos para comentar uno o más de los artículos que publicamos y así enriquecer la difusión del conocimiento de la patología clínica, con sus diversos matices propios de cada entidad sociogeográfica.

Vaya aquí la reiterada *invitación-compromiso* a todos nuestros colegas, principalmente a los latinoamericanos, incluidos por supuesto los brasileños, a colaborar en la construcción de nuestros siguientes números, con su comentario de crítica constructiva referido a alguno de los artículos publicados, en el que aporten su punto de vista, su conocimiento adicional o su experiencia sobre el tema.

Tengamos presente el título de este escrito y, más aún, la sentencia ya aparecida en diversas publicaciones científicas: *Publica o perece*.

Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre

Palabras claves: Enfermedades infecciosas, infección transmitida por transfusión, banco de sangre, transfusión de sangre.

Key words: Infectious diseases, infectious transmitted by transfusion, blood bank, blood transfusion.

Recibido: 23/06/2012
Aceptado: 23/08/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Pedro Sánchez Frenes,* María de Jesús Sánchez Bouza,**
Sara Hernández Malpica**

* Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos. Cuba.

** Universidad de Ciencias Médicas «Raúl Dorticós Torrado». Cienfuegos.

Correspondencia:

Dr. Pedro Sánchez Frenes
Calle 51 A y Avenida 5 de Septiembre,
CP 55100 Cienfuegos, Cuba
E-mail: pedrosanchezfrenes@yahoo.es
direccion@bsangre.cfg.sld.cu.

Resumen

186

Este artículo es una revisión bibliográfica de las características clínicas, de laboratorio y epidemiológicas de las enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión.

Abstract

The article is a literature review of the clinical, laboratory and epidemiological characteristics of infectious diseases transmitted by transfusion.

Introducción

Con el descubrimiento y desarrollo de los antibióticos, se pensó que las enfermedades infecciosas serían eliminadas rápidamente y quedarían sólo con interés histórico en el campo de la medicina. No sucedió así; por el contrario, hoy a este tipo de patología se le dedica gran atención. Después de la Segunda Guerra Mundial se desarrollaron nuevas drogas antimicrobianas mucho más potentes y seguras. Sin embargo, aunado al desarrollo de estos fármacos, los agentes infecciosos establecieron habilidades para escapar de las mejores armas y contraatacar con nuevas estrategias de supervivencia. También es importante el surgimiento de nuevos agentes infecciosos y la reemergencia de otros, condicionados fundamentalmente por los

cambios ambientales y las migraciones de personas y animales. En la actualidad, se ha demostrado el rol de los agentes infecciosos en la etiología de enfermedades no infecciosas, por ejemplo, la relación del *Helicobacter pylori* y el cáncer gástrico, herpes virus humano tipo 8 y el sarcoma de Kaposi, el virus de Epstein-Barr y el desarrollo de algunos linfomas, el virus del papiloma humano y el cáncer cervicouterino, entre otros. Además, existen evidencias de que la aterosclerosis tiene en los agentes infecciosos, componentes etiológicos, además algunas enfermedades de origen desconocido como artritis reumatoidea, sarcoidosis, enfermedad inflamatoria intestinal, pudieran tener alguna relación con etiología infecciosa.¹

No obstante, existe un agente infeccioso que revolucionó todas las disciplinas médicas: el virus

de la inmunodeficiencia humana (VIH). En medicina transfusional se produjeron cambios espectaculares en todos sus procesos, desde la selección de donantes hasta la utilización de componentes sanguíneos y hemoderivados. Condicionados fundamentalmente porque la transmisión de infecciones a través de la transfusión de sangre y sus componentes es una de las complicaciones más temidas de este importante procedimiento terapéutico. Constituye el elemento terapéutico de más rápido y eficiente impacto cuando está correctamente indicado y administrado. Las situaciones médicas de emergencia, como las provocadas por accidentes y actos de violencia, las asociadas a cirugía mayor, enfermedades no transmisibles, trastornos hematológicos como la hemofilia, la leucemia y la anemia aplásica y las complicaciones del embarazo y parto, requieren el uso de algún componente o derivado sanguíneo.¹⁻⁵

Este artículo pretende relacionar la medicina transfusional con las enfermedades infecciosas, desde aspectos clínicos, de laboratorio y epidemiológicos.

Desarrollo

La infección transmitida por transfusión (ITT) es producida por la transmisión directa de un agente infeccioso específico o sus productos tóxicos desde la unidad de sangre al huésped susceptible. Puede ser endógena, por portarla el donante; o exógena, por contaminación en el procesamiento.¹

Estas enfermedades son causadas por diferentes agentes biológicos y pueden cursar a lo largo de diversas etapas, desde la infección inaparente a la enfermedad grave o muerte. Hay que tener en cuenta que los términos de infección y enfermedad no son equivalentes. El primero se refiere a la entrada y el desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el huésped. El desarrollo de la enfermedad depende de diversos factores que afectan a todos los estadios de la cadena de infección.^{1,2,5}

Para que un agente infeccioso transmisible por transfusión represente un peligro para la salud pública ha de reunir ciertas características biológicas:⁶⁻¹⁰

- Debe estar presente en la sangre y transmitirse por vía parenteral de un modo eficaz.
- Debe poseer otros mecanismos de transmisión diferentes de la transfusión, que le permitan alcanzar una proporción epidémica en la población de donantes. Éstos no deben coincidir, en cuanto a los factores de riesgo epidemiológico, con los de las enfermedades infecciosas para los que se escruta a los donantes.
- Existencia de un periodo de infección asintomático.
- El agente biológico debe ser estable en las condiciones de conservación de los componentes sanguíneos.
- El agente biológico debe causar una enfermedad definida.

Dentro de los agentes biológicos relacionados con las infecciones transmitidas por transfusión y que poseen al menos alguna de las características anteriormente expuesta, se encuentran:^{1,7}

- Virus: Virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis D (VHD), virus de la hepatitis E (VHE), virus de inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), HTLV I/II, citomegalovirus, Epstein-Barr (VEB), parvovirus B 19, SARS, TTV, virus de oeste del Nilo.
- Parásitos: *Plasmodium*, *Trypanosoma cruzi*, *Babesia microti*, *Leishmania*, *Toxoplasma gondii*.
- Bacterias: *Staphylococcus aureus*, *B. difteroides*, micrococos, *Pseudomonas aeruginosa*, acromobacterias, coliformes, salmonella, *Yersinia enterocolitica*, *Serratia marsenses*, *Treponema pallidum*, *Brucella*, *Borrelia burgdorferi*.
- Otros: Priones.

La seguridad de los productos de la sangre depende primordialmente de la calidad en la selección de los donantes de sangre y de la realización confiable de ensayos de laboratorio en busca de enfermedades. Los métodos universalmente utilizados en la pesquisa de las infecciones

en la sangre donada se basan en la detección de anticuerpos y antígenos de los microorganismos que deben investigarse a través de los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA); adicionalmente se han incorporado los métodos de amplificación de ácidos nucleicos (NAT, PCR). Independientemente de garantizar esos procedimientos, la transmisión de enfermedades infecciosas a través de la transfusión de sangre y componentes sanguíneos puede ocurrir por cuatro razones: La primera y principal es la colecta de la donación de sangre durante el periodo de ventana, definido como el lapso durante el cual el donante está infectado con un virus, no tiene signos ni síntomas, y los resultados de las pesquisas serológicas son negativos (cuadro I).^{5,6,11} La segunda es la existencia de donantes asintomáticos portadores crónicos de una infección transmisible con resultados persistentemente negativos en las pruebas de laboratorio. La tercera está dada por infecciones con mutantes o cepas no detectables con las pruebas. Y por último, la cuarta, los errores técnicos en el laboratorio.¹¹

En correspondencia con lo anterior, se conoce que el riesgo de contaminación con la transfusión de una unidad de sangre es de 1 en 132,000 para el VIH, 1 en 43,000 para la hepatitis B y 1 en 19,000 para la hepatitis C. Para los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y de la hepatitis B (VHB), por lo menos 90% del riesgo es atribuible al periodo de ventana; mientras que para el virus de la hepatitis C (VHC) es de 73 a 88%. Se estima que este riesgo residual en España es de 1/400,000 donaciones para el VIH, 1/250,000 donaciones para el virus de

la hepatitis C, y 1/100,000 donaciones para el virus de la hepatitis B, según cálculos efectuados sobre las seroconversiones.^{7,11}

Las principales características, clínicas, de laboratorio y epidemiológicas de las infecciones transmitidas por transfusión se describen a continuación.

Hepatitis B

El VHB es el virus prototipo de la familia *Hepadnaviridae*. Es un virus envuelto, de 40-42 nm de diámetro con un "core" central de simetría icosaédrica de 27 nm de diámetro. Su material genético es un ADN circular, de doble cadena. La cubierta externa del virión es de naturaleza lipoproteica y su componente principal es una proteína denominada AgsHB.¹²

Para el diagnóstico de la hepatitis B se utilizan diferentes pruebas:^{12,13}

- Antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB). Indicador más precoz de una infección por VHB. Suele aparecer entre los 27 y 41 días, antecedendo a las anomalías bioquímicas en siete a 26 días.
- Anticuerpos frente al AgsHB (anti-HBs). La presencia de anticuerpos sin AgsHB detectable, indica recuperación de una infección por virus de la hepatitis B, ausencia de infectividad e inmunidad frente a una infección futura por VHB. Útil para evaluar la eficacia de un programa de vacunación.
- Antígeno e de la hepatitis B (AgeHB). Indica estado altamente infeccioso. Marcador de replicación viral en el hígado, se utiliza como alternativa al análisis de biología molecular (DNA-VHB).
- Anticuerpos frente al AgeHB (anti-HBe). Aparece después de la desaparición de AgeHB y es detectable durante años. Indica disminución de la infectividad y, por tanto, un buen pronóstico para la resolución de la infección aguda.
- Anticuerpos frente al antígeno del core total (anti-HBc total). Aparecen precozmente en la infección aguda, cuatro a 10 semanas después de la aparición del AgsHB. Persisten durante años o durante toda la vida.

Cuadro I. Periodo de ventana (expresado en días).

	ELISA	PCR	PCR (individual)
VIH 1	22	13	9
Hepatitis B	45	39	20
Hepatitis C	70	10	7

Fuente: ABC de la Medicina Transfusional. Guías clínicas. Cuba 2006.⁷

- VHB-ADN. Es el más sensible y específico para una evaluación precoz, puede detectarse cuando otros marcadores son negativos. Reduce el periodo de ventana a 20 días.

Hepatitis C

El descubrimiento del virus de la hepatitis C tuvo lugar en 1989. Es considerado el agente responsable de la mayoría de las hepatitis pos-transfusional no A no B (HPT-NANB). Es un virus de ARN lineal, monocatenario (parecido a los flavivirus) que mide 72 nm, con un periodo de incubación de 15 a 160 días. El primer inmunoensayo enzimático desarrollado para la identificación de anticuerpos contra este virus (Primera generación) se comenzó a utilizar antes de 1990 en Japón y, en ese año, en donantes de sangre en Estados Unidos.¹¹

Para el diagnóstico de la hepatitis C se utilizan diferentes pruebas:^{12,13}

- Anticuerpos frente al virus de la hepatitis C. Útil para la selección de poblaciones con baja y alta prevalencia, incluyendo donantes de sangre. Es necesario verificar resultados positivos con análisis suplementarios (RIBA) o ARN-VHC. Presente en 70% de casos de hepatitis crónica postransfusión.
- RIBA. Prueba confirmatoria que detecta más de 50% de los casos.
- Análisis del ARN-VHC. Puede ser cualitativa o cuantitativa.

La infección por VHC se identificó como un problema de salud en Cuba desde el inicio de la década de los 90. En el año 1995 se logró el pesquaje masivo de todos los donantes de sangre del país con el uso de los juegos diagnósticos UMELISA-VHC (TecnoSuma SA, La Habana, Cuba), que evolucionaron hasta alcanzar un sistema de tercera generación que está en uso en la Red Nacional de Bancos de Sangre desde 1998.¹¹

Retrovirus VIH-1 y VIH-2

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) aparece por primera vez en 1981 en Los Ángeles, Estados Unidos. Desde entonces el mundo ha visto cómo una enfermedad que en un principio fue descrita solamente en países desarrollados, en hombres homosexuales y usuarios de drogas inyectables, se transformó en una pandemia que afecta a millones de hombres, mujeres y niños de todos los continentes. Actualmente se estima que entre 5 y 10% de las infecciones por VIH a nivel mundial ocurren por la transfusión. La epidemia ha propiciado cambios radicales en la percepción sobre la seguridad de la transfusión de sangre.¹⁴

Se conocen dos agentes productores del SIDA, el VIH-1 y el VIH-2. El primero, con una distribución mundial, es el responsable de la mayor parte de los casos; el segundo está más circunscrito a la región del continente africano. El VIH-1 se clasifica filogenéticamente en los grupos M y O; el grupo M es además dividido en al menos ocho subtipos designados desde la A hasta la H. Estos subtipos presentan diferente distribución geográfica.¹⁵

El VIH infecta al organismo mediante tres vías: las relaciones sexuales desprotegidas; la exposición directa de piel no intacta y mucosas a sangre contaminada; la vía de la madre infectada al feto durante el embarazo, en el momento del parto, o a través de la lactancia materna, también conocida como transmisión materna infantil o transmisión vertical.¹⁵

La historia natural de la infección por el VIH comienza con un periodo conocido como infección primaria sintomática o retrovirosis aguda, con características clínicas semejantes a la mononucleosis infecciosa; posteriormente desarrolla un periodo carente de manifestaciones clínicas para presentar al final las complicaciones de la enfermedad.¹⁵⁻¹⁷

Para el diagnóstico de la VIH/SIDA se utilizan diferentes pruebas:^{12,13}

- a) Prueba para la detección de anticuerpos anti-VIH (serología VIH). Método indirecto de detección

que comienza a aparecer entre la cuarta y octava semana de la infección, ocasionalmente pueden tardar hasta seis meses. Es altamente sensible (superior a 99.0%) y poco específica. La tasa de falsos positivos es 2%.

- b) Western Blot (WB). Técnica de confirmación. Permite discriminar frente a qué antígenos virales se dirigen los anticuerpos presentes.
- c) Cultivo viral. El retrovirus puede aislarse de linfocitos de sangre periférica o médula ósea y también de plasma sin células. No es una prueba diagnóstica estándar debido a su costo elevado, consumo de mucho tiempo y potencialmente peligrosa.
- d) Análisis cuantitativo y cualitativo de RNA-VIH
- e) Antígeno viral.

En Cuba desde 1986 se desarrollaron sistemas de pesquiasje autóctonos, empleándose en el estudio masivo de los donantes por ELISA con antígenos naturales (Sistema ELISA DAVIH, DAVIHLab, La Habana, Cuba), y luego con el sistema UMELISA HIV 1/2 (TecnoSuma, La Habana, Cuba). Estableciéndose el algoritmo de diagnóstico de VIH.¹¹

Sífilis

Es causada por la espiroqueta *Treponema pallidum* y se transmite generalmente por contacto sexual. La fase de espiroquetinemia es breve y los microorganismos sólo sobreviven algunos días a 4 °C de modo que, si bien es posible la transmisión por transfusión, sucede muy rara vez. La seroconversión ocurre mucho antes de la fase de espiroquetinemia. Las pruebas serológicas estándar para sífilis se exigen como indicador de conducta potencialmente de alto riesgo que hace más probable la transmisión de otros microorganismos.⁵

La enfermedad se manifiesta en tres periodos: primario, secundario y terciario, siendo el chancro sífilítico la lesión primaria característica. La enfermedad, de no ser correctamente tratada, puede desarrollar lesiones granulomatosas (gomas) en la piel, hueso e

hígado, cambios degenerativos del sistema nervioso central o lesiones cardiovasculares.^{18,19}

Para el diagnóstico de la sífilis se utilizan diferentes pruebas:¹⁸

- Observación en campo oscuro.
- Pruebas serológicas:
 - a. Pruebas de antígenos no treponémicos.
 - Pruebas de floculación: VDRL (*Veneral Disease Research Laboratories*) y RPR (*Rapid Plasma Reagin*).
 - Pruebas de fijación de complemento (FC).
 - b. Pruebas de antígenos treponémicos:
 - FTA-ABS (prueba con antígenos treponémicos fluorescente).
 - Prueba de TPI (*Treponema pallidum immobilization*).
 - Prueba de fijación de complemento con *Treponema pallidum*.
 - Prueba de hemaglutinación con *Treponema pallidum*.

Las pruebas de antígenos no treponémicos VDRL y RPR son las utilizadas en Cuba para la certificación de la sangre; están sujetas a resultados falsos positivos. Antes de notificar los resultados de la prueba, se recomienda realizar otras técnicas para ver si presentan anticuerpos específicos contra el *Treponema pallidum*.^{19,20}

HTLV-I y HTLV-II

El HTLV-I fue el primer retrovirus humano reconocido en 1980. Es endémico en el sudoeste del Japón, en el Caribe y África ecuatorial. El HTLV-I está asociado al menos con dos enfermedades: la leucemia-linfoma T del adulto, la cual presenta un periodo de incubación prolongado de 30-40 años, y a la paraparesia espástica tropical, cuyo periodo de incubación es de tres a cinco años. El HTLV-II no se ha asociado hasta el momento en forma fehaciente con ninguna enfermedad. Ambos virus

se encuentran firmemente asociados a las células (linfocitos), y no se transmiten por productos extracelulares. La probabilidad de transmisión disminuye con el tiempo de almacenamiento del componente sanguíneo.¹¹

La pesquisa en donantes de sangre para anticuerpos anti-HTLV-I se inició en 1986 en Japón y posteriormente se hizo obligatorio en varios países, como Estados Unidos, Francia y Holanda, entre otros. En Cuba las pruebas de detección de anticuerpos contra ambos virus revelaron, según las primeras encuestas seroepidemiológicas llevadas a cabo en la década de los 90, que existe una baja seroprevalencia de anticuerpos, por lo que no constituye actualmente una prueba obligatoria para la certificación de la sangre del donante en el país.^{5,11,20}

Enfermedad de Chagas

La tripanosomiasis americana es endémica en América del Sur y América Central. Es causada por el parásito protozooario *Trypanosoma cruzi*. La forma infecciosa no pasa al hombre por picadura de insectos, sino que se introducen cuando las heces infestadas del insecto son frotadas en la conjuntiva o sobre lesiones de la piel. Se estima que en el mundo existen entre 16 y 18 millones infectados por este parásito, con una mortalidad entre 45 y 50 mil personas por año. La existencia de portadores crónicos y la viabilidad del *Trypanosoma* a la conservación de sangre, condicionan el peligro de transmisión de esta enfermedad por transfusión. Se han desarrollado varias pruebas para el diagnóstico de esta patología. Los más utilizados son los métodos serológicos por inmunoensayo (ELISA).^{5,19,21,22}

Paludismo

El paludismo es causado por varias especies del género de protozoarios intraeritrocíticos *Plasmodium*. En general, la transmisión es resultado de la picadura de un mosquito anofeles, pero la infección puede

seguir a la transfusión parasitémica, considerada la complicación parasitaria más reconocida de la transfusión. En los Estados Unidos las especies implicadas son *P. malariae* (40%), *P. falciparum* (25%), *P. vivax* (20%) y *P. ovale* (15%). Los parásitos pueden sobrevivir como mínimo durante una semana en componentes almacenados a temperatura de 4 °C y a la crioconservación con glicerol.^{19,23}

No existe prueba serológica práctica para detectar el paludismo transmisible en individuos asintomáticos. La manera de evitar su transmisión por el uso de sangre y componentes es a través de la selección predonación, investigando sobre los antecedentes médicos y de viajes. No aceptando aquellos individuos con riesgo elevado de infectividad.^{5,19}

Citomegalovirus (CMV)

La seroprevalencia de anticuerpos contra el CMV en la población general es elevada, de 50 a 100% en diferentes países, dependiendo de factores tales como nivel socioeconómico, edad, área geográfica y otros. Este hecho ocasiona que la disponibilidad de unidades de sangre seronegativas sea muy limitada. La transmisión de CMV por vía transfusional está asociada sólo con componentes celulares y en pacientes inmunodeprimidos, bebés prematuros de bajo peso, receptores de trasplantes. La eliminación de leucocitos en glóbulos rojos y concentrados plaquetarios reduce la posibilidad de transmisión de la infección. En la actualidad, se utilizan para pacientes susceptibles unidades filtradas, para reducir el número de linfocitos, y/o seronegativas para CMV.^{5,11}

Parvovirus B19

El riesgo de transmisión por vía transfusional varía con la incidencia de la infección. Sólo se han publicado tres casos de enfermedades asociadas con transmisión por vía transfusional o por trasplante. La incidencia de viremia del parvovirus B19 en

donantes de sangre es muy baja. En Cuba, la transmisión sanguínea de este virus no ha sido evaluada.¹¹

Virus de Epstein-Barr (EBV)

Produce la mayoría de los casos de mononucleosis infecciosa y está estrechamente asociado con el carcinoma nasofaríngeo, linfoma Burkitt y otros trastornos linfoproliferativos. La infección del EBV transmitida por transfusión es asintomática. Es una causa rara de hepatitis postransfusional. Se ha descrito en pacientes sometidos a cardiocirugía y en los que se ha requerido administración masiva de sangre recién extraída.^{5,11}

Fiebre por garrapatas de Colorado

Es una enfermedad febril aguda adquirida por mordeduras de garrapatas en las regiones montañosas del oeste de los Estados Unidos. El virus puede persistir en sangre periférica hasta 90 días después de desaparecidos los síntomas, pero se ha comunicado el estado de portador crónico. El virus ha sido transmitido por transfusión.⁵

Babesia

El parásito intraeritrocitario *Babesia microti* es el agente causal de la babesiosis humana, transmitida por mordeduras de garrapata del ciervo en el noreste de Estados Unidos. El parásito puede sobrevivir hasta 35 días en almacenamiento líquido a 4 °C y ha sido transmitido por componentes de plaquetas y eritrocitos crioconservados. No existe ninguna prueba para el examen masivo en individuos asintomáticos. La selección exquisita en regiones endémicas es la única forma de prevención de la transmisión por transfusión.^{5,19}

Enfermedades emergentes

El descubrimiento de nuevas enfermedades infecciosas, de sus agentes etiológicos y de su fisiopa-

togenia es noticia frecuente en la prensa médica y las agencias noticiosas. Particularmente para la medicina transfusional, algunos de ellos constituyen preocupación por el riesgo de transmisión a través de la transfusión de sangre y/o sus componentes.^{16,24} Algunos ejemplos:

- Hepatitis causada por los virus: VHG, TTV, SEN-V.
- Síndrome respiratorio agudo severo (SRAS).
- Fiebre del virus del Nilo Occidental. (VNO)
- Enfermedad de Creutzfeld-Jacob (causada por priones).

En algunas de ellas, como los virus de la hepatitis y el virus del Nilo Occidental, se ha demostrado la transmisión de la enfermedad a través de transfusión de sangre. En otros como el SARC y las enfermedades transmitidas por priones, sólo existe un riesgo teórico, no ha sido posible probar su transmisión por transfusión, por falta de evidencia epidemiológica. La vigilancia estrecha de las manifestaciones clínicas, epidemiológicas y de laboratorio de estas enfermedades, así como la selección de los donantes de sangre, constituyen las herramientas disponibles para evitar la transmisión de ellas por la transfusión.^{5,16,24}

Contaminación bacteriana

La contaminación bacteriana de los componentes sanguíneos constituye una clara amenaza para los receptores de las transfusiones, especialmente de concentrados de plaquetas. Dentro de los gérmenes más frecuentemente reportados están: *Pseudomonas*, *Citrobacter freundii*, *Echerichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Bartonella* y especies de *Brucella*.^{5,19,25}

La infusión de componentes sanguíneos contaminados por bacteria puede causar una reacción séptica devastadora, con tasas de letalidad hasta 26%. Dentro de las principales manifestaciones clínicas están enrojecimiento facial, fiebre alta, dolores abdominales, vómitos, diarreas, choque,

hemoglobinuria, insuficiencia renal y coagulación intravascular diseminada. Según los reportes de la FDA (Administración de Alimentos y Fármacos) sitúan el riesgo de fallecimiento por bacteriemia provocada por la transfusión en 1/500,000 de transfusiones de plaquetas y 1/8000,000 de unidades de concentrados de hematíes. La prevalencia real del problema no se conoce con exactitud.^{19,25}

Conclusiones

Por todo esto, se han dedicado grandes esfuerzos para lograr mayor seguridad en la transfusión de sangre. El desarrollo de ensayos de laboratorio más sensibles y específicos y la creación de procedimientos de inactivación viral son dos ejemplos claros de este hecho. No obstante, hoy constituye un problema no resuelto. Adicionalmente existe el peligro de surgir nuevas epidemias o agentes biológicos relacionados con la transfusión de sangre. Esto convierte a la seguridad de la sangre o sus componentes en un aspecto de particular importancia en la medicina moderna.

Referencias

1. Lawrence CM, Dennis LK. Introduction to infectious diseases: Host-pathogen interactions. In: Harrison Principles of Internal Medicine. 16th ed. McGraw-Hill Professional; 2004.
2. Muñiz DE. Los riesgos de la transfusión en su punto justo. SETS [serie en Internet] 2003 [citado 10 dic 2007]. Disponible en: http://www.sets.es/sets/web/boletin/revista_2004730_2819.pdf
3. Prólogo. En: Ballester Santovenia JM. ABC de la medicina transfusional. Guías clínicas. Cuba 2006. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2006. pp. 8-9.
4. Alfonso VME, Lam DRM, Ballester SJM, Cao FW, Ballester PL, Morales BCJ et al. Aspectos socioculturales relacionados con la donación de sangre en Cuba. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2002; 18 (3).
5. Manual Técnico AABB. 12 ed. Bethesda: American Association of Blood Banks; 1997. pp. 541-568.
6. Cádiz Sohen A. Inmunoglobinas de uso intravenoso. Características y usos clínicos. Medellín: Litografía SECREA; 2004. p. 41.
7. Infecciones transmitidas por la sangre. En: Ballester SJM. ABC de la medicina transfusional. Guías clínicas. Cuba 2006. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2006. pp. 37-40.
8. Epidemiología de las enfermedades transmisibles. En: Beaglehole R, Bonita R, Kjellström T. Epidemiología básica. Washington DC: OPS; 1994. pp. 103.
9. Valdes SL. Enfermedades y otros daños a la salud. Enfermedades infecciosas transmisibles. Epidemiología general. En: Toledo CG. Fundamentos de Salud Pública. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2005. pp. 409-435.
10. Pereira A. Más allá de la vigilancia. SETS [serie en Internet] 2003. [Citado 21 Nov 2007]. Disponible en: http://www.sets.es/sets/web/boletin/revista_2004730_688.pdf
11. Rivero Jiménez RA. Transmisión de infecciones virales por la transfusión de sangre. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2006; 22 (2).
12. Centro de Inmunoensayo. Tecnología SUMA. Aplicaciones y usos. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2007. pp. 190-224.
13. Wallach J. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. 4a ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; pp. 292-304.
14. La primera conferencia chilena sobre VIH/sida [monografía en Internet] Centro de Convenciones Diego Portales, 2005. [citado 9 Jun 2007]. Disponible en: <http://www.Consida.cl/activ/11conferencia/2dasin.htm>
15. Cancio EI, Sánchez FY, Raymond GV, López RV. Información básica sobre la atención integral a personas viviendo con VIH/SIDA. La Habana: Ediciones Lazo Adentro; 2006.
16. Valdés GL, Carbonell GI, Delgado BJ, Santín PM. Enfermedades emergentes y reemergentes. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 1998. pp. 135-138.
17. Oropesa GL, Sánchez VL, Berdasquera CD, Gala GA, Pérez ÁJR, Isela LM. Debut clínico del SIDA en Cuba. Rev Cub Med Trop 2007; 59 (2).
18. Ginebra GOA. Microorganismos espirilares. En: Llop HA, Valdés-Dapena VM, Zuazo SJM. Microbiología y parasitología médicas. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. pp. 387-398.
19. Rivero JRA. Transmisión de infecciones bacterianas y parasitarias por transfusión de sangre componentes. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter. [serie en Internet] 2008; 24 (1). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sciarttext&pid=S086402892008000100001>
20. Ballester SJM, Alfonso VME, Ballester PL, Bencomo HA, Cortina RL, Macías AC et al. Procederes para bancos de sangre y servicios de transfusión. Cuba 2004. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2004.
21. Alberti Amador E. Tripanosoma spp. En: Llop HA, Valdés-Dapena VM, Zuazo SJM. Microbiología y parasitología médicas. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. pp. 49-68.
22. Sáez AA. Valoración de las técnicas actuales para el estudio de la enfermedad de Chagas en muestras de donantes. SETS [serie en Internet] 2006 [Citado 22 Nov 2007]. Disponible en: http://www.sets.es/sets/web/boletin/revista_2007421_8785.pdf
23. Rojas RL. Plasmodium. En: Llop HA, Valdés-Dapena VM, Zuazo SJM. Microbiología y parasitología médicas. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. pp. 151-167.
24. Rivero JRA. Enfermedades infecciosas emergentes: transmisión por la transfusión de sangre. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter [serie en Internet] 2006 [Citado 22 Nov 2007]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S086402892006000100004&lng=pt&nrm=iso
25. Muñiz DE. Contaminación bacteriana de componentes sanguíneos un reto pendiente. SETS [serie en Internet] 2003 [citado 10 dic 2007]. Disponible en: http://www.sets.es/sets/web/boletin/revista_2004730_8502.pdf

Modification of fatigue indicators using citrulline malate for high performance endurance athletes

Key words: Citrulline malate, high exercise, endurance training, sport, fatigue, lactate.

Palabras clave: Malato de citrulina, ejercicio intensidad alta, entrenamiento de resistencia, deporte, fatiga, lactato.

Recibido: 25/05/2012
Aceptado: 07/06/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

JA López-Cabral,* A Rivera-Cisneros,** H Rodríguez-Camacho,* JM Sánchez-González,*** I Serna-Sánchez,* M Trejo-Trejo**

* Centro de Medicina y Ciencias Aplicadas al Deporte CODE Jalisco.
** División Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato.
*** Academia Mexicana de Cirugía.

Corresponding author:

JA López-Cabral
George Santayana 4963. Jardines Universidad 45110. Zapopan, Jalisco, México. E-mail: cabral_lopez@hotmail.com

Abstract

194

High intensity physical exercise favors accumulation of lactate in muscles and bloodstream, leading to impaired muscle function and exercise performance. This study evaluated the effect of citrulline malate (CM) on blood lactate concentration and perception of fatigue after muscular effort in high performance athletes. Seventy-two high-performance athletes who gave written informed consent were randomly assigned to CM 3 g/day, CM 6 g/day or placebo for 13 days. Blood lactate measurements were performed every training day. Fatigue was assessed through an auto-administered questionnaire at baseline and after 6 and 13 days. Main criterion was the percentage of blood lactate recovery 30 minutes after training. The mean percentage of lactate recovery 30 minutes after training was $89.3 \pm 1.1\%$ in the CM3 and $97.9 \pm 1.3\%$ in the CM6 group, becoming significantly greater than placebo at day 5 with CM3 and at day 3 with CM6. Lactate variations were stable or decreased in the 2 active groups, whereas they increased in the placebo group. At day 13, there was no fatigue perceived in 87.8% (CM6), 71.3% (CM3) and 15.9% (placebo) athletes. Citrulline malate enhances lactate and fatigue recovery of high performance endurance athletes, allowing a faster recovery and training adaptation without deleterious effects.

Resumen

Hacer ejercicio físico con una intensidad alta favorece la acumulación de lactato en los músculos y circulación sanguínea, lo cual afecta a la función muscular y el rendimiento deportivo. Este estudio evaluó el efecto del malato de citrulina (MC) en la concentración de lactato en sangre y la percepción de la fatiga después de un esfuerzo muscular en deportistas de alto rendimiento. A 72 deportistas de alto rendimiento que dieron su consentimiento informado por escrito se les asignó al azar a 3 g/día de MC, 6 g/día de MC o placebo durante 13 días. Las mediciones de lactato en sangre se llevaron a cabo todos los días de entrenamiento. La fatiga se evaluó mediante un cuestionario autoadministrado al inicio del estudio y después de seis y 13 días. El criterio principal fue el porcentaje de recuperación de lactato en sangre 30 minutos después del entrenamiento. El porcentaje medio de recuperación de lactato 30 minutos después del entrenamiento fue $89.3 \pm 1.1\%$ en el grupo MC3 y $97.9 \pm 1.3\%$ en el grupo MC6, llegando a ser significativamente mayor que el placebo en el día 5 con MC3 y en el día 3 con MC6. Las variaciones de lactato se mantuvieron estables o disminuyeron en los dos grupos activos, mientras que aumentaron en el grupo de placebo. En el día 13, no se percibió fatiga en 87.8% (MC6), 71.3% (MC3) ni en 15.9% (placebo) de los deportistas. El malato de citrulina mejora la recuperación de lactato y la fatiga de los deportistas con un entrenamiento de alta resistencia, lo que permite una recuperación más rápida y una adaptación al entrenamiento sin efectos nocivos.

Introduction

Overtraining syndrome frequently occurs in athletes who train beyond the body's ability to recover. Without adequate rest and recovery, long and hard training regimens can backfire, and actually decrease physical performance. During physical exercise, when the demand of energy is higher than the maximum aerobic capacity, the anaerobic metabolism compensates leading to lactic acid production. Once formed, lactic acid quickly dissociates and diffuses in the blood stream as lactate. As the intensity of physical exercise increases and the anaerobic cellular reactions become predominant, changes occur in specific metabolites associated to the muscle contractile machinery (H^+ , ATP, ADP and inorganic phosphate). These changes together with decrease in the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release definitely culminate in the inhibition of skeletal muscles contractility and reduction of performance known as fatigue.^{1,2} In these conditions, the lactate production is faster than its clearance and the large amount of lactate produced accumulates in the muscles and blood stream. Even if the importance of removing the accumulated lactate is under continuing debate, it has been recognized that elevated levels of skeletal muscle and blood lactate are associated with impaired muscle function and exercise performance.³⁻⁵

During high intensity exercise, blood concentration of ammonia, another metabolite, also increases. Ammonia is produced during the reactions of ATP re-synthesis and is eliminated through the cycle of urea, responsible of ammonia detoxification to urea in the liver. High blood concentrations of ammonia are associated to muscle exhaustion. Ammonia, in fact, facilitates the production of lactate by activating the phosphofructokinase enzyme and prevents the oxidative metabolism of pyruvate hindering the supply of ATP to skeletal muscle.⁶

Citrulline malate (CM - Reactimol® CONCORDIA/BIOCOCODEX) is a mixture of citrulline, one of non-essential amino acids, which is involved in the

urea cycle, and malate, a tricarboxylic acid cycle (TCA) intermediate. It is usually prescribed in the treatment of asthenia, at a daily dose of 3 g. Several body of evidence in humans and rats has indicated that CM treatment significantly reduces the sensation of fatigue and improves aerobic muscle function in subjects suffering from asthenia.⁷

Perez-Guisado *et al*⁸ demonstrated that a single dose of CM conferred a benefit in pain control and performance to athletes engaged in high-intensity anaerobic exercises which increase lactate, ammonia, and acidosis.

The present study aimed to evaluate the effect of 3 and 6 g/day CM on blood lactate concentration recovery and the perception of fatigue after muscular effort in high performance athletes (pentathlon, athletics and speed skating).

Materials and methods

Subjects and study design. The trial was designed as a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-groups study and took place at CODE Jalisco, Guadalajara (Mexico) in April 2011. Eligible subjects were healthy volunteer athletes of both genders, aged 13 to 20 years. They had to belong to Jalisco CODE teams (pentathlon, athletics and speed skating) with a minimum of two years of high performance training. Pregnancy or breast feeding, declared allergy to CM or use of CM or other anti-asthenic products within 1 month before the study were exclusion criteria. The study was approved by the Jalisco Health Department Ethics Committee, and written informed consent was obtained from all participants and their family before study initiation. Subjects were randomly assigned to receive CM 3 g/day, CM 6 g/day or placebo for 13 days. Randomization was stratified by sport. Commercially available CM was diluted in 1L of commercial lemon-flavour beverage used for hydration of athletes. Subjects assigned to placebo received the beverage only. Beverages containing CM were indistinguishable from those without CM,

nor colour, nor smell, nor taste. The drinks were prepared by a staff not involved in the study conduct. The study lasted two weeks (13 days), with a 1-hour training session every day except the last day of first week (Day 7) considered a rest day. The study criteria included blood lactate levels, an auto-administered fatigue questionnaire, body weight and heart rate, and adverse event. Blood lactate measurements were performed every training day before training (Baseline Level – BL), immediately after training (LES), then 5 minutes (LES₅) and 30 minutes (LES₃₀) after training, using a commercial digital lactate analyzer (Lactate Scout[®], EKF Diagnostic). The questionnaire used to define the subjective level of muscle fatigue as perceived by athletes was a variant of the 26-points questionnaire described by Brun *et al.*⁹ The number of questions was reduced to 12 in order to reduce the time of athlete's application and maintain their attention focused. Athletes filled the questionnaire at the end of the training week before study initiation (Day 0), Day 6 and Day 13 of the study, in the interval of time LES₅ – LES₃₀, answering at each question with no (absence of muscle fatigue); occasionally (occasional tiredness); always (presence of muscle fatigue); results were expressed as a percentage of each type of answer over the 12 questions. Body weight and heart rate were measured before and immediately after training at baseline and Day 13.

The primary efficacy criterion was the percentage of blood lactate recovery 30 minutes after training, defined as $(LES - LES_{30}) / (LES - BL) \times 100$, where LES, LES₃₀ and BL represent the maximum level of blood lactate registered at the end of the training, the level of blood lactate at 30 minutes after the training phase and at baseline (before training), respectively. Secondary criteria were the percentage of responders determined as subjects achieving an 80% or higher level of recovery of blood lactate level 30 minutes after training, changes over time in lactate levels, changes in rates of subjective fatigue levels, and safety.

Statistical methods. Sample size was determined using a relevant difference of 20% between placebo and CM in blood lactate recovery, with a mean effect size of 11.8%, a variance of 23.5, an alpha risk of 0.05, and a power of 0.80. The homogeneity on the basal blood lactate level in the three groups of study was assessed using an analysis of variance. The percentage of recovery was determined each day of the trial (except the resting day) and results expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM) for each study group. Percentages of recovery, changes in lactate levels over time and changes in fatigue were compared between groups using an analysis of variance for repeated measurements model. The percentage of responders was compared between groups using a χ^2 test. The primary efficacy criterion analysis was planned on the Intention-to-Treat (ITT) population, i.e., subjects allocated to treatment, and on the Per Protocol analysis (PP) i.e., subjects who completed the study without major deviations to the protocol Minitab[®] Statistical Software, version 15.0 (Minitab Inc. Pennsylvania) was used for analyses.

Results

Seventy-two subjects were enrolled. All completed the study without major deviations to the protocol and were included in the ITT population, which was identical to the PP population. Twenty-five athletes were allocated to receive CM 3 g/day, 24 to CM 6 g/day and 23 to placebo. Demographics, baseline characteristics and baseline levels of lactate were evenly distributed between the 3 groups (table I). The mean level of lactate at baseline was over the accepted normal range (0.5 – 2.2 mmol/L).

Percentage of recovery of blood lactate level 30 minutes after a training session (figure 1). The overall mean percentage of recovery of blood lactate level 30 minutes after training was $89.5 \pm 1.4\%$ in the placebo group, $89.3 \pm 1.1\%$ in the CM 3 g group and $97.9 \pm 1.3\%$ in the CM 6 g. The difference in blood lactate recovery for subjects treated

Table 1. Demographics and baseline characteristics.

	Citrulline Malate 3 g/day n = 25	Citrulline Malate 6 g/day n = 24	Placebo n = 23
Age (years)*	16.9 ± 2.2	17.3 ± 2.3	17.2 ± 2.2
Male n (%)	17 (68.0)	14 (58.3)	15 (65.2)
Sport n (%)			
Pentathlon	8 (32,00)	8 (33,33)	7 (30,43)
Athletics (Coach A)	7 (28,00)	7 (29,17)	7 (30,43)
Athletics (Coach B)	7 (28,00)	6 (25,00)	7 (30,43)
Speed-skating	3 (12,00)	3 (12,50)	2 (8,70)
Lactate level (mmol/L)**	2.6 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.8 ± 0.1

* Mean ± standard deviation. ** Mean ± standard error of the mean.

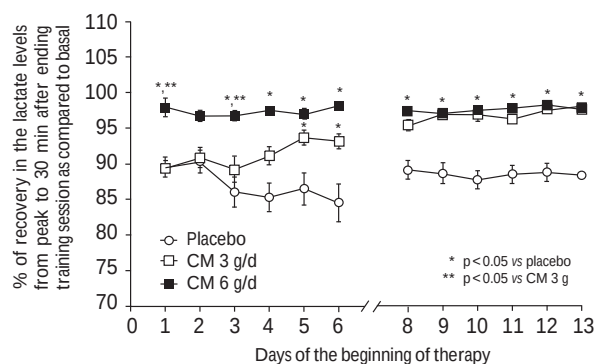


Figure 1. Percentage of recovery of lactate levels 30 minutes after the end of training compared to basal levels over time. Percentage of recovery of blood lactate 30 minutes after training is defined as $(LES - LES_{30}) / (LES - BL) \times 100$, where LES represents the maximum level of blood lactate registered at the end of the training, LES_{30} the level of blood lactate 30 minutes after the training phase and BL the lactate baseline level (before training).

Data are shown as mean ± standard error of the mean (SEM). CM = Citrulline malate.

* $p < 0.05$ compared to the placebo.

** $p < 0.05$ versus the lower dose of citrulline malate 3 g.

with CM 6 g and placebo started to be statistically significant since the 1st day and confirmed from the 3rd day up to the end of the treatment period. In the CM 3 g group, the difference from placebo became significant at Day 5.

Percentage of responders to CM therapy (figure 2). During the first week of study, the

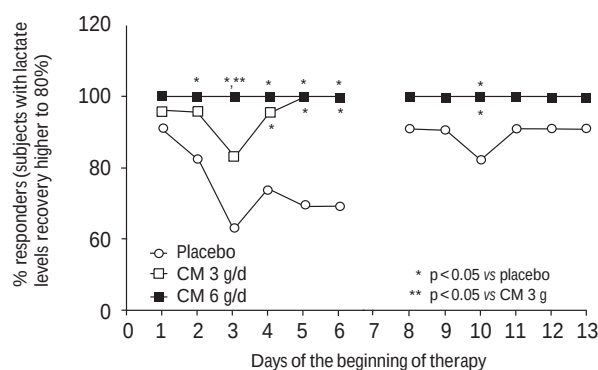


Figure 2. Frequency of subjects reaching at least 80% recovery. During the 2nd week, D8 to D13, the 2 citrulline malate curves are superimposed.

Data are shown as the percentage of each group. CM = Citrulline malate.

* $p < 0.05$ compared to the placebo.

** $p < 0.05$ versus the lower dose of citrulline malate 3 g.

percentage of responders in the placebo group progressively dropped from 82.6% to 63.6% during the first three days of training, then stabilized to about 70%. In the group of athletes treated with CM 6 g, 100% of subjects reached a percentage of recovery higher than 80% and this value statistically differed from that observed in placebo group starting from Day 2. In the CM 3 g group, the percentage of responders exceeded 80% and became statistically different from the placebo group at Day 4. On Day 3, in the placebo as in the

CM 3 g groups the percentage of responders had a negative peak which was consistent with the largest training load of the week. In the second week of study, the percentage of responders in the placebo group increased and remained stable to about 90%, except at Day 10 in which training intensity was again maximal. In the same week, the totality of athletes treated with CM reported a percentage of lactate recovery higher than 80%, so responded to therapy, without differences between the two dose groups.

Changes over time in lactate levels at baseline, at peak at the end of training, and during the recovery phase (figure 3). Basal lactate levels in CM 6 g were statistically different from those in placebo group since Day 2 up to the end of the treatment. In the CM 3 g group, significant

differences appeared from Day 8 (figure 3A). At the end of the training, when the peak of blood lactate concentration was reached (LES), lactate levels were statistically different from those observed in the placebo group starting from Day 2 in the CM 6 g group and Day 4 in the CM 3 g group (figure 3B). At Day 8, after the resting day, the difference was statistically significant from placebo for the CM 6 g group. At baseline as well as at LES, lactate blood concentrations tended to slightly increase over time or remain stable in placebo group, whereas athletes treated with CM showed a lactate recovery trend during the first week and mostly during the second week of study.

Five minutes after the end of training (LES₅), the values of lactate concentrations and the general trend of curves in the three groups of study were

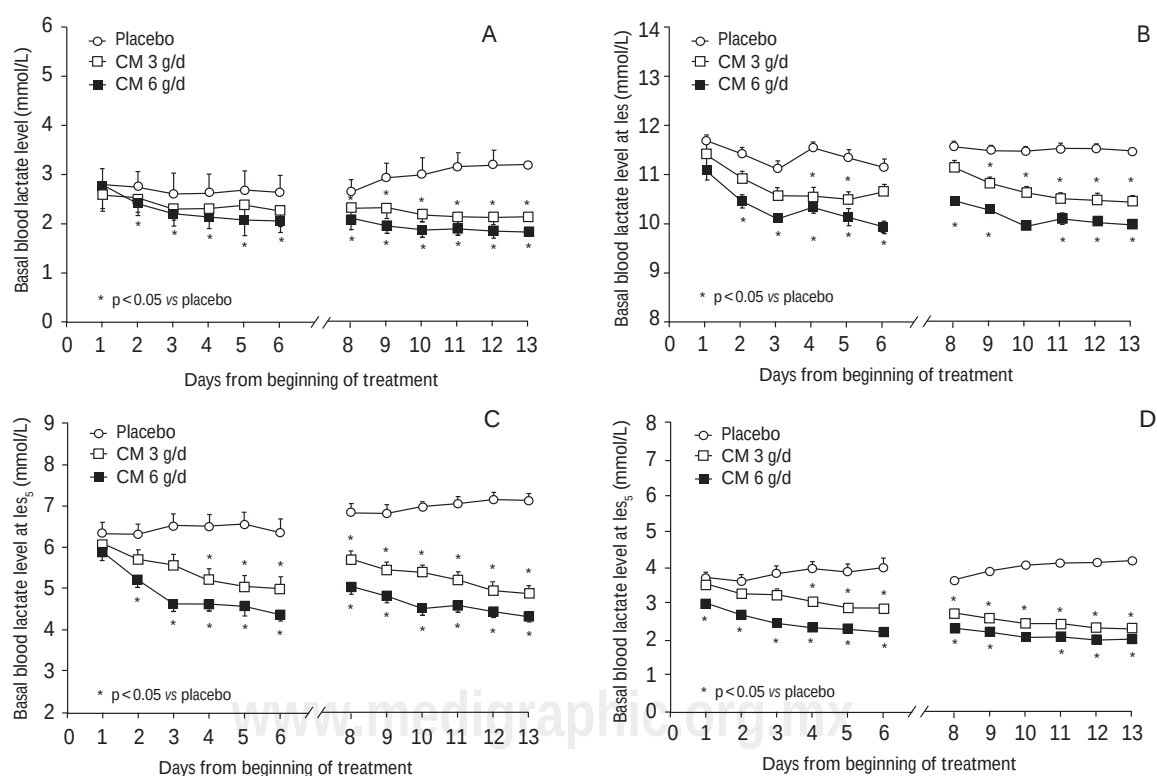


Figure 3. Changes over time in blood lactate levels during the 4 phases of monitoring: A) basal, B) end of training; C) recovery 5 min after training, and D) recovery 30 min after training.

Data are shown as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). CM = Citrulline malate.

* $p < 0.05$ compared to the placebo.

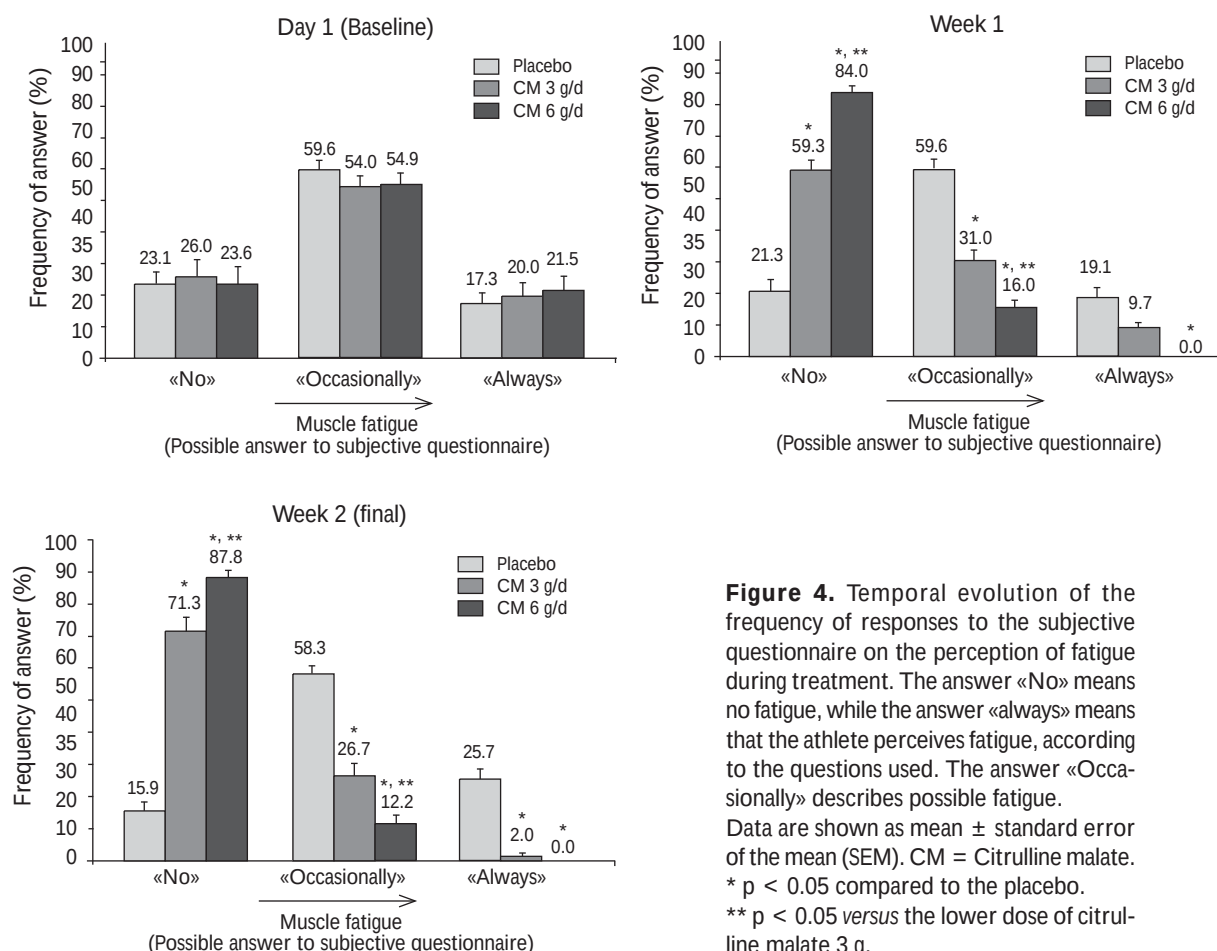


Figure 4. Temporal evolution of the frequency of responses to the subjective questionnaire on the perception of fatigue during treatment. The answer «No» means no fatigue, while the answer «always» means that the athlete perceives fatigue, according to the questions used. The answer «Occasionally» describes possible fatigue. Data are shown as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). CM = Citrulline malate. * $p < 0.05$ compared to the placebo. ** $p < 0.05$ versus the lower dose of citrulline malate 3 g.

very similar to those reported at LES (figure 3C). The LES₃₀ differed significantly between the 2 CM groups and the placebo, with differences starting from the 1st day for the CM 6 g group and from the 4th day for the CM 3 g (figure 3D). These differences persisted until the end of the study and also after washout resting day (Day 7).

Fatigue level assessed by questionnaire (figure 4). At baseline, the 3 groups had a similar level of perceived fatigue. After one week of treatment, the perceived fatigue decreased in the 2 active groups whereas it remained stable in the placebo group. Both doses of CM reduced the perception of fatigue during treatment. This effect appears to be dose dependent in the first week and be similar in the second week.

Safety. No adverse event was reported during the study. No dehydration occurred. Monitoring of weight and heart rate throughout the study showed no changes.

Discussion

The present study shows that CM allows a greater recovery of blood lactate and of fatigue after muscular effort in high performance athletes. The methodology used for the trial (randomised, double-blind, placebo-controlled) is adequate to warrant the validity of statistical results. The stratification scheme prevents analyse results with sport as cofactor. The study population, teenagers, represents the majority of high-level athletes,

which allows extrapolate the observed results to any endurance sportsman.

The mean basal levels of blood lactate concentration were similar in the three study groups and were higher than the normal range. This may be due to the high training to which athletes were submitted during the two weeks preceding the study; this intensive training aimed to guarantee blood lactate levels high enough to well appreciate potential CM effects. The blood lactate concentration has been chosen as evaluation criterion because it represents one of the most often measured parameters during clinical exercise testing and a rise in its value is considered an indicator of intense muscular activity.¹⁰

CM demonstrated its efficacy on the main study efficacy criterion, blood lactate recovery 30 min after training. This was supported also by the effects obtained on the percentages of responders and perceived fatigue. The study allowed also showing that the expected results are obtained quicker with 6 g daily, although the 2 dosages have the same efficacy after 2 weeks.

Athletes treated with placebo showed a lactate recovery rate from peak and a percentage of responders in the second week of treatment slightly higher than those reported in the first week. This has been considered physiological and interpreted as a consequence of the metabolic adaptation which occurs during intense muscle exercise.¹¹⁻¹³ The same difference in values between the first and the second week of study is less obvious in the two CM treated groups where the effects of CM are dominant over the physiological adaptation.

Lactate concentration variations from baseline to peak and during recovery phase, in the two weeks of study, showed that CM is efficient in holding lactate concentration stable or even decreasing, whereas in the placebo group blood lactate accumulates over time. The CM efficiency is evident at any monitoring point (baseline, LES, LES₅ and LES₃₀). Overall, if comparing the results obtained in the two weeks, the CM effect on lac-

tate recovery at baseline as well as at peak is less variable and more pronounced during the second week. This is due to the mechanism of adaptation in the metabolic response of the working muscles during the first week training. The beneficial effects exerted by muscular activity on removal of lactate overproduction during endurance training are gathered from blood lactate levels as measured at Day 8 of peak. This is the day following the resting day and the corresponding values of lactate concentrations are higher than those registered on Day 6, confirming that physical exercise also contributes to stimulate lactate recovery. The physiological mechanisms underlying the CM effect on lactate recovery observed in this study could be hypothesized on the basis of results coming from previous investigations. CM administered in association with physical exercises resulted in a significant reduction in the sensation of fatigue and increase in the rate of oxidative ATP production during exercise.⁷ These effects have been ascribed to malate, a TCA intermediate, which could affect aerobic ATP production through anaplerotic reactions. In another study, CM administration has been associated to an increased rate of ammonia clearance.¹⁴ Citrulline is involved in the urea cycle and allows detoxification of ammonia, which concentration increases during intense physical exercises with potential risks due to its cellular toxicity.

CM, whereas given at recommended dosage or higher dosage, has also shown to be well tolerated, without adverse effects in this teenager population.

Conclusions

This randomized, double-blind, placebo-controlled trial demonstrates that a supplementation of citrulline malate enhances lactate clearance and fatigue recovery of high performance endurance athletes. It becomes relevant to design strategies that clears blood lactate after high intensity exercise bouts, as this enables a faster recovery of the subject and may support subsequent high-intensity exercise, leading

to greater overload and consequently enhanced training adaptation, without deleterious effect.

References

1. Allen DG, Lännergren J, Westerblad H. Muscle cell function during prolonged activity: Cellular mechanisms of fatigue. *Exp Physiol* 1995; 80: 497-527.
2. Green HJ. Mechanisms of muscle fatigue in intense exercise. *J Sport Sci* 1997; 15: 247-256.
3. Minshull C, Gleeson N, Walters-Edwards M, Eston R, Rees D. Effects of acute fatigue on the volitional and magnetically-evoked electromechanical delay of the flexors in males and females. *Eur J Appl Physiol* 2007; 100: 469-478.
4. Sahlin K, Ren JM. Relationship of contraction capacity to metabolic changes during recovery from a fatiguing contraction. *J Appl Physiol* 1989; 67: 648-654.
5. Westerblad H, Allen DG. Changes of intracellular pH due to repetitive stimulation of single fibres from mouse skeletal muscle. *J Physiol* 1992; 453: 413-434.
6. Takeda K, Machida M, Kohara A, Omi N, Takemasa T. Effects of citrulline implementation on fatigue and exercise performance in mice. *J Nutr Sci Vitaminol* 2011; 57: 246-250.
7. Bendahan D, Mattei JP, Ghattas B, Confort-Gouny S, Le Guern ME, Cozzzone PJ. Citrulline/malate promotes aerobic energy production in human exercising muscle. *Br J Sports Med* 2002; 36: 282-289.
8. Perez-Guisado J, Jakeman PM. Citrulline malate enhances athletic anaerobic performance and relieves muscle soreness. *J Strength Condit Res* 2010; 24 (5): 1215-1222.
9. Brun JF. The overtraining: To a system of evaluation usable by routine examination. *Science and Sport* 2003; 18: 282-286.
10. Goodwin ML, Harris JE, Hernández A, Gladden LB. Blood Lactate Measurements and Analysis during Exercise: A Guide for Clinicians. *J Diab Sci Technol* 2007; 1: 558-569.
11. Phillips SM, Green HJ, Tarnopolsky MA, Heigenhauser GJF, Grant SM. Progressive effect of endurance training on metabolic adaptations in working skeletal muscle. *Am J Physiol* 1996; 270: 265-272.
12. Messonnier L, Freund H, Denis C, Féasson L, Lacour JL. Effects of training on lactate kinetics parameters and their influence on short high-intensity exercise performance. *Int J Sport Med* 2006; 27 (1): 60-66.
13. Green JH, Bombardier E, Duhamel TA, Stewart RD, Tupling RA, Ouyang J. Metabolic, enzymatic and transporter response in human muscle during three consecutive days of exercise and recovery. *AJP* 2008; 295 (4): 1238-1250.
14. Vanuxem D, Duflot JC, Prevot H et al. Influence of an anti-asthenia agent, citrulline malate, on serum lactate and ammonia kinetics during a maximum exercise test in sedentary subjects. *Séminaire des Hôpitaux de Paris* 1990; 66: 477-481.

Actividad desoxirribonucleasa (ADNasa) en un aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans*

Palabras clave: ADNasa, muestra clínica, *Mycoplasma fermentans*.

Key words: DNase, clinical sample, *Mycoplasma fermentans*.

Recibido: 28/05/2012
Aceptado: 05/07/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

José Antonio Rivera-Tapia,* Edith Chávez-Bravo,* Nancy Lara-Sánchez,** Fernando Hernández-Aldana,*** Nadia Rodríguez-Preval****

* Laboratorio de micoplasmas, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), México.

** Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP.

*** Centro de Química del Instituto de Ciencias de la BUAP.

**** Laboratorio Nacional de micoplasmas del Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kouri», La Habana, Cuba.

Correspondencia:

Dr. José Antonio Rivera-Tapia

Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Edificio 103-J, Ciudad Universitaria. C.P. 72570, Puebla, México. E-mail: jart70@yahoo.com

202

Resumen

Los micoplasmas son los microorganismos más pequeños auto-replicables, causan enfermedades respiratorias y urogenitales en el humano y colonizan de forma crónica sin aparente significado clínico. La carencia de pared celular en los micoplasmas les facilita interactuar con las células de mamíferos durante largos periodos de tiempo. Esta interacción puede disminuir la virulencia de los micoplasmas; sin embargo, puede afectar propiedades biológicas de la célula hospedera. Las ADNasas son constituyentes importantes en las membranas de los micoplasmas y se pueden involucrar en la obtención de ácidos nucleicos para su crecimiento a partir de su hospedero. El objetivo del trabajo fue detectar la actividad de ADNasas a partir de un aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans*. Los productos de la digestión se analizaron en gel de agarosa Tris-borato, por absorbancia y en agar para la detección de ADNasas. Se observó actividad de ADNasa en las cepas evaluadas, presentándose variación en los niveles de actividad, siendo *Mycoplasma fermentans* PI40 quien presentó mayor actividad. Estos datos sugieren que las ADNasas son esenciales para el crecimiento y supervivencia, siendo un mecanismo para adquirir nucleótidos.

Abstract

Mycoplasmas are a heterogeneous group of the smallest organisms capable of self replication, some mycoplasmas cause respiratory or urogenital diseases in humans. However, mycoplasmas often chronically colonize our respiratory and urogenital tracts without apparent clinical significance. In this respect, wall free mycoplasmas are among the few prokaryotes that can grow silently in close interaction with mammalian cells for a long period of time. However, prolonged interactions with mycoplasmas of seemingly low virulence could, through a gradual and progressive course, significantly affect many biologic properties of mammalian cells. DNases are important constituents of mycoplasmal membranes and may be involved in the acquisition of host nucleic acids required for growth. The objective was detected DNase activity in clinical *Mycoplasma fermentans* isolate. Digestion products were analyzed by loading a Tris-borate agarose gel, absorbance and medium for DNase test. DNase activity was observed in strains tested and the levels of activity varied, *Mycoplasma fermentans* PI40 showing greater activity. Result suggests DNases activities may be essential for growth and survival, this finding suggests that there is a mechanism of nucleotide acquisition.

Introducción

Los micoplasmas (clase *Mollicutes*) son procariontes representados por nueve géneros y 200 especies descritas. Se distinguen del resto de las bacterias por su reducido tamaño celular, el de su genoma y por la carencia de pared celular. En su membrana celular se localizan determinantes antigénicos proteínicos y glucolipídicos. Para su cultivo en laboratorio requieren esteroides y precursores de aminoácidos y nucleótidos preformados. Distintas especies de micoplasmas colonizan la superficie de la mucosa respiratoria y se han reportado infecciones extrapulmonares en sistema nervioso central, sistema hematopoyético, piel, articulares, cardíacas, renales, tracto genitourinario y gastrointestinales causadas por *Mycoplasma pneumoniae*, y como cofactor en la progresión del desorden inmunológico se relaciona a *Mycoplasma fermentans*.¹⁻⁴

Mycoplasma fermentans se aisló por primera vez de tracto genital y ha sido implicado como agente etiológico en diferentes patologías. Este micoplasma interacciona con las células hospederas por medio de sus componentes proteicos de membrana, facilitando la adhesión y consecuente internalización.¹ La ausencia de capacidad biosintética de ácidos nucleicos en estos microorganismos permite proponer el estudio de los mecanismos por los cuales adquieren los precursores necesarios para sintetizar sus ácidos nucleicos. Los procesos de transporte se han identificado y reportado,⁵ pero los procesos de degradación aún no son estudiados en especies de interés médico. En este trabajo se evidenció la actividad de ADNasa en *Mycoplasma fermentans* aislado de vía respiratoria de un paciente con asma procedente del Hospital Universitario de Puebla-México.

Material y métodos

Micoplasmas y cultivo. El aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans* P140 proveniente de vía

respiratoria de un paciente con asma procedente del Hospital Universitario de Puebla-México.⁶ Se utilizó para estudiar la actividad de ADNasa y *Mycoplasma fermentans* PG18 (ATCC 19989), se incluyó en el estudio como cepa control. Los micoplasmas fueron cultivados en medio estándar para micoplasmas [20 gramos de base para micoplasmas por litro (Difco Laboratories), 0.5% de dextrosa, 0.002% de rojo de fenol, 5% de extracto de levadura, 25% de suero de caballo (GIBCO/BRL), ajustando a pH 7.8]. Los cultivos fueron incubados a 37 °C durante cinco días.

Ensayos de la actividad ADNasa. Los cultivos de *Mycoplasma fermentans* P140 y *Mycoplasma fermentans* PG18 fueron cosechados en la fase logarítmica de crecimiento, centrifugándose a 14,000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos y lavados con solución de fosfato de sodio 0.01 M y cloruro de sodio 0.14 M pH 7.3 (PBS), resuspendiendo a una concentración de 100 µg de proteínas por mililitro en solución PBS más 1% de dextrosa, 2 mM CaCl₂ y 2 mM MgCl₂ (PBS-CM). Para determinar la actividad ADNasa se colocaron 25 µL de suspensión celular (2.5 µg de proteína) en placas de 96 pozos. Un volumen equivalente de ADN lambda (10 µg/mL de PBS) se adicionó a cada uno de los pozos, incubándose las placas durante 24 horas a 37 °C. La digestión del ADN fue monitoreada cada seis horas y los productos de la digestión fueron analizados en gel de agarosa Tris-borato con 8 µL de muestra por pozo, corriendo el gel a 100 V durante 45 minutos y teñido con bromuro de etidio.

La degradación de ADN también se determinó en un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Lambda 20) en un rango de 200-400 nm. Se corroboró la actividad de ADNasa con el ensayo en agar estándar para micoplasmas [20 gramos de base para micoplasmas por litro (Difco Laboratories), 1.3% de agar bacteriológico, 0.5% de dextrosa, 5% de extracto de levadura, 25% de suero de caballo (GIBCO/BRL) y 0.1 mg/mL de ADN, ajustando a pH 7.8]. El agar fue inoculado con 20 µL de cultivo de cada uno de los micoplasmas evaluados a una concentración

de 1×10^6 UFC/mL, incubándose a 37 °C durante siete días. Enseguida, los cultivos fueron cubiertos con 100 μ L de HCl 1 N. La aparición de una zona clara sobre el crecimiento microbiano se considera reacción positiva a actividad de ADNasa.

Resultados y discusión

La actividad de ADNasas se ha propuesto como un mecanismo para adquirir precursores de ácidos nucleicos, ya sean bases libres y/o oligonucleótidos, de tal manera la capacidad de algunas especies de micoplasmas para invadir células sugiere que el ADN de la célula hospedera sirve como sustrato para la actividad de ADNasas y consecuente obtención de precursores.⁷

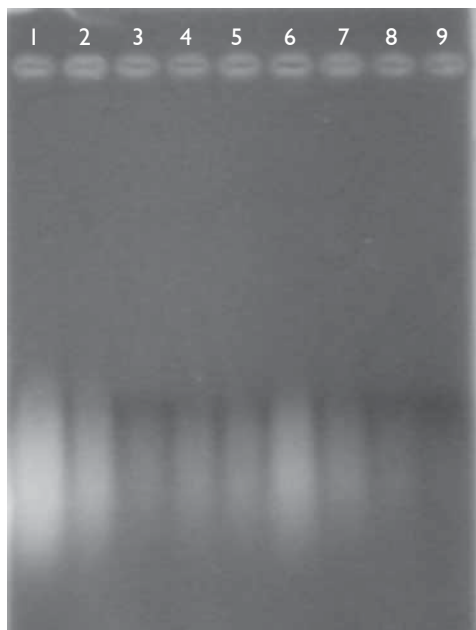


Figura 1. Productos de la actividad de ADNasas en gel de agarosa Tris-borato, carril 1 tiempo cero (sin digestión-control); carriles 2, 3, 4 y 5 con los tiempos 6, 12, 18 y 24 horas, respectivamente, en presencia de *Mycoplasma fermentans* PG18; carriles 6, 7, 8 y 9 con los tiempos 6, 12, 18 y 24 horas, respectivamente, en presencia de *Mycoplasma fermentans* PI40. Se observa que a las 24 horas (carril 9) la actividad de ADNasas de *Mycoplasma fermentans* PI40 degrada en 95% al ADN respecto a PG18 con 45% de degradación (carril 5).

Los ensayos de actividad de ADNasa muestran que la cepa de referencia *Mycoplasma fermentans* PG18 degrada al ADN en menor proporción que el aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans* PI40. A partir de las 12 horas, *Mycoplasma fermentans* PI40 presenta un gradiente de degradación más marcado conforme avanzan las 24 horas (figura 1). La mayor actividad ADNasa por parte de la cepa clínica (PI40) se explica por la interacción reciente que mantenía con su hospedero, situación que condiciona mayor virulencia en algunas muestras clínicas.

Las lecturas de absorbancia corroboran los gradientes observados en los geles de agarosa de los productos de la degradación de ADN. La degradación del ADN debida a la actividad de ADNasas en *Mycoplasma fermentans* PG18 fue 45 y 95% para *Mycoplasma fermentans* PI40 a las 24 horas (figura 2).

En el ensayo de cultivo en agar se presentó una zona clara sobre el desarrollo microbiano, indicativo de la digestión enzimática, siendo más evidente en las muestras del aislamiento clínico de *Mycoplasma fermentans* PI40 (figura 3).

Estos datos sugieren que la actividad de ADNasa es esencial en el crecimiento y supervivencia de *Mycoplasma fermentans*, principalmente en el aislamiento clínico, representando un mecanismo *in vivo* de adquisición de nucleótidos, además de confirmar lo reportado para *Mycoplasma pulmonis*, *Mycoplasma hyorhinis* y *Acholeplasma laidlawii* que no son de importancia médica⁸⁻¹⁰.

El aislamiento de *Mycoplasma fermentans* a partir de diferentes tejidos y su implicación en la patogénesis del virus de la inmunodeficiencia humana permite darle la importancia clínica, ya que su participación en diferentes patologías aún no se estudia ampliamente. Estos datos son una contribución en la comprensión de algunos de los mecanismos que permiten a *Mycoplasma fermentans* ser un parásito exitoso, además de representar un dato relevante para llevar a cabo el diagnóstico etiológico y en la determinación de virulencia de la cepa bacteriana aislada en el laboratorio.

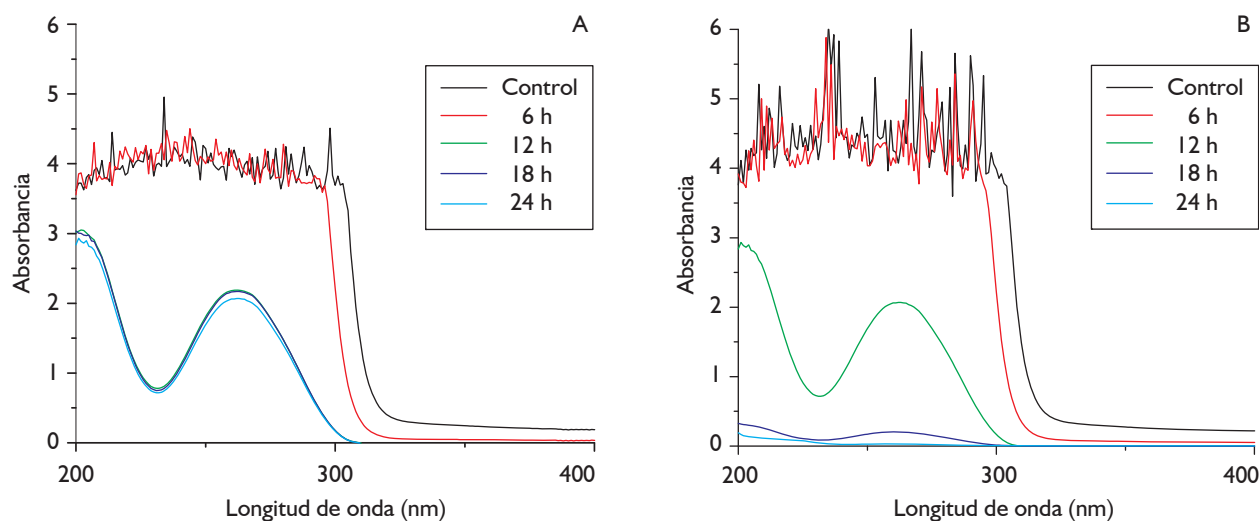


Figura 2. Valores de absorbancia de los productos de la degradación del ADN por actividad de ADNasas. **A:** actividad de *Mycoplasma fermentans* PG18 con 45% de degradación a las 24 horas. **B:** *Mycoplasma fermentans* PI40 con 95% de degradación de ADN a las 24 horas.

Imágenes en color en: www.medigraphic.com/patologiaclinica

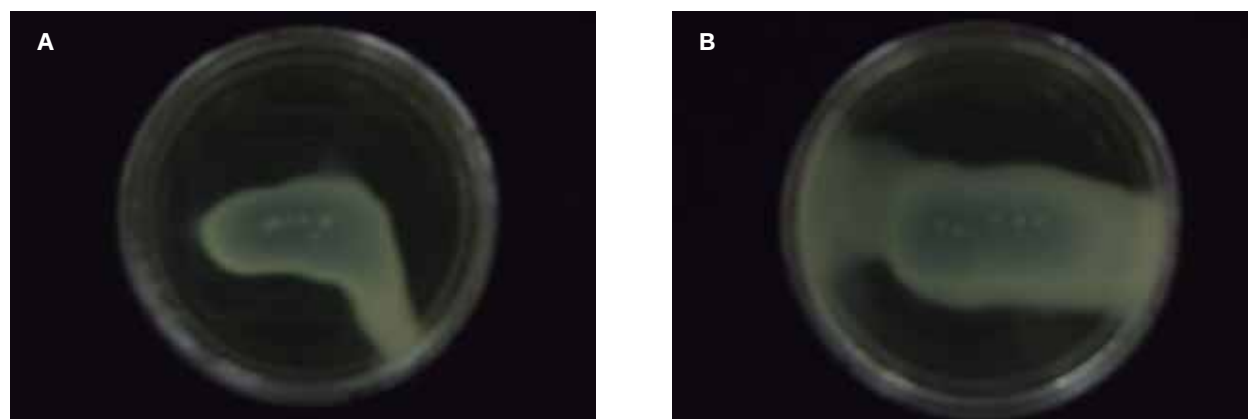


Figura 3. El ensayo de actividad de ADNasa en agar mostró una zona clara sobre el crecimiento microbiano, considerándose reacción positiva. **A:** *Mycoplasma fermentans* PG18. **B:** *Mycoplasma fermentans* PI40.

Imágenes en color en: www.medigraphic.com/patologiaclinica

Conclusiones

Los datos presentados permiten considerar a *Mycoplasma fermentans* como un microorganismo más con actividad de ADNasas, lo cual ayuda a entender mejor y ampliar el conocimiento de los mecanismos con los que cuenta este micoplasma, y también para comprender cómo sobrevive en diferentes tejidos humanos donde ha sido aislado y relacionado como agente etiológico. De tal ma-

nera, se están estudiando otras especies de interés médico para establecer su importancia clínica y se sugiere que sea solicitado con mayor frecuencia su diagnóstico de laboratorio.

Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el financiamiento al proyecto (RITJ)-

NAT I 2-I) y la beca otorgada a Nancy Lara-Sánchez para realizar su estancia de investigación.

Referencias

1. Rottem S. Interaction of mycoplasma with host cells. *Physiol Rev* 2003; 83: 417-432.
2. Sánchez HJA, Rivera TJA, Cortés MA, Tlecuitl MN, Méndez VF. Afecciones genitourinarias y micoplasmas. *Rev Mex Patol Clin* 2003; 50: 71-76.
3. Chowdhury IH, Munakata T, Koyanagi Y, Kobayashi S, Arai S, Yamamoto N. Mycoplasma can enhance HIV replication *in vitro*: A possible cofactor responsible for the progression of AIDS. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 170: 1365-1370.
4. Campo L, Larocque P, La Malfa T, Blackburn WD, Watson HL. Genotypic and phenotypic análisis of *Mycoplasma fermentans* strains isolated from different host tissues. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1371-1377.
5. Razin S. The mycoplasmas. *Microbiol Rev* 1978; 42: 414-470.
6. Gil C, Maldonado MG, Zenteno E, Yáñez A, Paz D, Cedillo L. Detección de micoplasmas en pacientes con asma. *Rev Inst Nac Enf Resp Mex* 1999; 12: 113-119.
7. Bendjennat M, Blanchard A, Loutfi M, Montagnier L, Bahraoui E. Role of *Mycoplasma penetrans* endonuclease P40 as a potential pathogenic determinant. *Infect Immun* 1999; 67: 4456-4462.
8. Minion FC, Coguen JD. Identification and preliminary characterization of a membrane-bound endonuclease in *Mycoplasma pulmonis*. *Infect Immun* 1986; 51: 352-354.
9. Roganti FS, Rosenthal AL. DNase of *Acholeplasma* spp. *J Bacteriol* 1983; 155: 802-805.
10. Paddenbergh R, Weber A, Wulf S, Mannherz HG. Mycoplasma nucleases able to induce internucleosomal DNA degradation in cultured cells possess many characteristics of eukaryotic apoptotic nucleases. *Cell Death Differ* 1998; 5: 517-528.

DetECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS EN EL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y PRONÓSTICO DE LA ARTRITIS DE RECIENTE COMIENZO

Palabras clave: Artritis reumatoide, autoanticuerpos, diagnóstico precoz, pronóstico.

Key words: Rheumatoid arthritis, autoantibodies, early diagnosis, prognosis

Recibido: 06/06/2012
Aceptado: 30/08/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Ramón Suárez Zaldu,* Alicia Ramagli,* Fany Duran,* Andrea Torrens,* Silvia López*

* Instituto Nacional de Reumatología, Montevideo, Uruguay.

Correspondencia:
Dr. Ramón Suárez Zaldu
Instituto Nacional de Reumatología.
Av. Italia 2420 CP 11.600
Montevideo, Uruguay.
Tel/fax: +598224871020
E-mail: rasuzal@gmail.com

Resumen

Introducción: Prevenir y disminuir la lesión articular en la artritis reumatoide ha sido el foco clínico en la última década. Un diagnóstico en un plazo inferior a noventa días en las artritis de reciente comienzo es fundamental para este fin. Prever la gravedad evolutiva para instaurar un tratamiento adecuado ha sido otro reto. **Objetivo:** Mostrar mediante un análisis retrospectivo la sensibilidad y especificidad de un panel mínimo de autoanticuerpos instaurado en el 2011 en el Instituto Nacional de Reumatología de Uruguay en aquellos pacientes con artritis de reciente comienzo. **Resultados:** Con el modelo utilizado, obtuvimos sensibilidad diagnóstica de 48.5% y una especificidad de 98.2% en la primera consulta, ambas muy superiores a lo conseguido con protocolos de estudio previos. **Conclusiones:** La selección de anticuerpos fue eficiente, altamente específica y tuvo sensibilidad diagnóstica útil.

Abstract

Background: Prevent and reduce the injury in rheumatoid arthritis has been the clinical focus in the last decade. A diagnosis in less than ninety days in the recent onset arthritis is essential for this purpose. Anticipate the evolutionary gravity to establish adequate treatment has been another challenge. **Objective:** To show through a retrospective analysis the sensitivity and specificity of an autoantibodies minimum panel established in 2011 at the National Institute of Rheumatology in patients with arthritis of recent onset. **Results:** We obtained sensitivity of 48.5% and a specificity of 98.2% in the first consultation date, both far superior to previous study protocols. **Conclusions:** Antibody selection was efficient, highly specific and had a useful diagnostic sensitivity.

207

Introducción

La artritis es la inflamación de una o más articulaciones y puede corresponder a diferentes enfermedades (infecciosa, microcristalina, metabólica, autoinmune y otras).¹

Se considera artritis de reciente comienzo (ARC) aquella cuya duración es inferior a 6-12 meses y su pronóstico aún no es bien conocido.

No todo síndrome poliarticular inflamatorio corresponde a una artritis reumatoide (AR). Sin embargo, la mayoría de los estudios tiende a detectar artritis reumatoide en estos casos, ya que es la patología que mayor incapacidad y repercusión social causa, siendo a su vez la más frecuente de las enfermedades autoinmunes del área reumatológica y en la que se sabe que un temprano diagnóstico mejora la morbilidad, pre-

serva la función articular y la expectativa de vida de los portadores.²

Sin embargo, no todas las poliartritis simétricas de pequeñas y grandes articulaciones tienen una enfermedad persistente y con mal pronóstico. Por esto es útil conocer desde las primeras semanas de la enfermedad el futuro de la misma, destacando que de eso dependerá la agresividad del tratamiento empleado y el pronóstico general de la enfermedad.³

Los criterios diagnósticos clásicos no son válidos para artritis de reciente comienzo, por lo que en el 2010 se optó por los criterios de clasificación del *American College of Rheumatology* y la *European League Against Rheumatism* (ACR/EULAR)⁴ (cuadro I).

El laboratorio clínico es un pilar en la evaluación inicial al marcar los niveles inflamatorios: eritrosedimentación, proteína C reactiva, hemograma, etcétera. También desempeña un papel importante como apoyo diagnóstico al detectar autoanticuer-

pos, así como en el seguimiento evolutivo y pronóstico de las artritis de reciente comienzo. Esto ha llevado a buscar anticuerpos de mayor sensibilidad y especificidad diagnóstica.

Clásicamente se ha utilizado el factor reumatoide como principal autoanticuerpo. Su sensibilidad y especificidad diagnóstica dependen de la metodología empleada. Para seleccionar la técnica con la cual se analizarán los niveles séricos se requiere que detecte por lo menos isotipos IgM e IgG y que su especificidad alcance al menos 95%. Las técnicas turbidimétricas y nefelométricas son las más aceptadas.⁵

El avance tecnológico logrado durante las últimas décadas ha permitido que se cuente con otros anticuerpos de gran especificidad y sensibilidad, principalmente anticuerpos antipéptidos citrulinados, RA33, etcétera.

El estudio de estos autoanticuerpos en un comienzo se postuló como último recurso ante un

Cuadro I. Criterios de clasificación 2010 del Colegio Americano de Reumatología y Liga Europea Contra el Reumatismo. Ann Rheum Dis 2010; 69:1580-1588.

	Puntaje
<i>Población blanca (¿quién debe ser evaluado?), pacientes que:</i>	
1. Tienen al menos una articulación con sinovitis clínica	
2. Sinovitis no explicada por otra enfermedad	
Criterios de clasificación para artritis reumatoide. Se debe sumar el puntaje de categorías A-D.	
Valores superiores a seis clasifican como artritis reumatoide:	
A. Articulaciones afectadas	
• 1 gran articulación	0
• 2 a 10 grandes articulaciones	1
• 1 a 3 pequeñas articulaciones	2
• 4 a 10 pequeñas articulaciones	3
• > de 10 articulaciones (al menos una pequeña)	4
B. Serología (es necesario al menos un resultado para la clasificación)	
• FR y CCP negativos	0
• FR o CCP débil positivo	2
• FR o CCP positivos	3
C. Reactantes de fase aguda (es necesario al menos un resultado)	
• Eritrosedimentación y proteína C reactiva normales	0
• Eritrosedimentación o proteína C reactiva elevados	1
D. Duración de los síntomas	
• Menos de seis semanas	0
• Más de seis semanas	1

Abreviaturas: FR = Factor reumatoide. CCP = Anticuerpos antipéptidos citrulinados.

cuadro clínico sospechoso con elementos inflamatorios y con factor reumatoideo negativo.⁶

A la luz de los actuales conocimientos, pensamos que el estudiar varios autoanticuerpos desde un inicio puede mejorar la sensibilidad y especificidad diagnóstica y así acortar tiempos, sin crear conflictos entre costo y beneficio.

Hasta la última década sólo se habían definido como elementos paraclínicos de mal pronóstico altos títulos de anticuerpos y niveles elevados de marcadores de inflamación (eritrosedimentación, proteína C reactiva, fibrinógeno, etcétera).

Predecir la evolución de una artritis tiene mayor importancia para tomar decisiones terapéuticas que predecir si un síndrome artrítico reunirá, en algún momento, criterios de clasificación para una enfermedad definida.⁷

En cuanto al pronóstico, en la literatura internacional se establece que los pacientes que sólo presentan RA33 positivo desarrollan artritis de mejor evolución, si bien, la sumatoria de este anticuerpo a cualquiera de los otros determina mayor gravedad. En otros trabajos se plantea que la suma de autoanticuerpos coincide con evoluciones severas.⁸

El objetivo de este trabajo fue analizar de forma retrospectiva la eficiencia, valor predictivo positivo, sensibilidad y especificidad diagnóstica de un panel mínimo de autoanticuerpos que realizamos durante el año 2011 en el Instituto Nacional de Reumatología de Uruguay y que incluye factor reumatoideo (FR), anticuerpos antipéptidos citrulinados (CCP), RA33 y (anticuerpos antinucleares) ANA en aquellos pacientes que en su consulta médica cumplirían con las pautas clínicas de artritis de reciente comienzo (ARC), para evidenciar así el grado de adecuación de estos estudios a los requerimientos actuales de diagnóstico precoz y pronóstico evolutivo, así como su rentabilidad.

Material y métodos

Se realizó un análisis retrospectivo de un grupo de 96 pacientes pertenecientes al grupo ARC del Insti-

tuto Nacional de Reumatología del Uruguay (www.panlareoa.org) catalogados según los criterios del ACR/EULAR del 2010⁴ (*cuadro I*). Los pacientes incluidos tuvieron un tiempo medio de evolución de cuatro meses y tres semanas (mínimo seis semanas, máximo 12 meses). Este grupo estuvo compuesto por 24 varones y 72 mujeres de 22 a 74 años.

Las muestras se obtuvieron en ayunas en las primeras horas del día después de que en la consulta clínica se confirmara que el paciente cumplía los criterios de inclusión en el grupo ARC.

En todos los casos se determinó:

1. Factor reumatoideo por inmunturbidimetría (FR) (Wiener Lab), el rango de referencia considerado fue < 40 UI/mL.
2. Anticuerpos antipéptidos citrulinados (CCP) ELISA (INOVA); para éstos, el rango de referencia fue < 30 UI/mL.
3. RA33 por ELISA (Ra33) (Human Lab), el rango de referencia fue < 8 UI/mL.
4. Anticuerpos antinucleares por IFI-Hep2 (ANA) (Diasorin). Fueron consideradas positivas diluciones superiores a 1/40 con fluorescencia.

Como grupo control se consideraron 178 muestras de sujetos considerados sanos. En estos casos también se realizaron FR, CCP, RA33 y ANA.

El estudio consistió en analizar qué resultados obtendríamos si en este grupo sólo se hubiera realizado FR, cuando se realizó FR y CCP y el resultado que se obtuvo con el actual panel de reacciones, ya que en todos los casos se realizó FR, CCP, RA33 y ANA.

Como método estadístico se analizaron los resultados según criterios estadísticos de Bayes (*cuadro II*).

El Comité de Ética de la Institución determinó que la metodología utilizada en este trabajo contempla los parámetros éticos del Decreto 83/1998 del Poder Ejecutivo de Uruguay. Los pacientes dieron su consentimiento firmado para participar en el grupo.

Resultados

Para poder utilizar los criterios estadísticos se consideraron positivos verdaderos (TP) aquellos test con valores superiores al rango de referencia y que clínicamente el paciente cumplía con los criterios clínicos diagnósticos para artritis reumatoide. Fueron considerados negativos verdaderos (TN) el grupo control con parámetros paraclínicos dentro del rango normal.

Fueron considerados falsos positivos (FP) aquellos pacientes del grupo control, supuestos sanos, con test superiores al rango de referencia.

Como falsos negativos (FN) se tomaron aquellos test con valores dentro del rango normal, pero que clínicamente el paciente cumplía inequívocamente los criterios diagnósticos.

El grupo de pacientes que cumplían los criterios diagnósticos se estableció como (D) y (ND) el

grupo control. El total de sujetos analizados fue considerado como (TS).

En el total (N = 96) de pacientes, 11 (11.5%) fueron positivos para FR, 21 (21.9%) para CCP, 26 (27.1%) para RA33, el IFI para ANA fue positivo en cuatro (4.2%). Algunos de los pacientes tuvieron dos o más anticuerpos positivos.

En el grupo control hubo tres FR positivos, dos CCP y un RA33 superior al rango de referencia. La prueba ANA fue negativa en todos los casos.

En el *cuadro III*, se analizan los diferentes grupos preestablecidos. El *cuadro IV* muestra el grado de sensibilidad y especificidad diagnóstica de cada grupo, así como el valor predictivo positivo alcanzado y la eficiencia de los test.

Conclusión

El panel implantado en 2011 en nuestra Institución tuvo una sensibilidad diagnóstica superior (48.9%) a las experiencias previas en las que utilizábamos sólo estudio de factor reumatoideo (36.4%) de forma única o conjunta con anticuerpos antipéptidos citrulinados (41.6%), ya sea de forma escalonada o en visita única (*cuadro IV*).

210

Cuadro II. Criterios estadísticos de Bayes.

Sensibilidad $p(A/B) = TP/D$
Especificidad $p(Ac/Bc) = TN/FP$
Valor predictivo positivo $p(A/Bc) = TP/(TP + FP)$
Eficiencia $p(A/B)p(Ac/Bc) = (TP + TN)/TS$

Donde: TP es positivos verdaderos, TN negativos verdaderos, FN falsos negativos, FS falsos positivos, D sujetos con la enfermedad, ND sujetos sin la enfermedad y TS total de sujetos

Cuadro III. Número de casos positivos según los grupos preestablecidos.

Grupo	Casos positivos		
	N	n	%
FR	96	35	36.5
FR + CCP	96	40	41.7
PANEL	96	47	48.9

En el grupo FR se toma a los pacientes como si sólo se les hubiera realizado FR, en el grupo FR+CCP se toma a los pacientes como si sólo se les hubiera realizado FR y CCP. En el grupo panel se considera a los pacientes con la totalidad de test realizados: FR, CCP, RA33 y ANA.

Cuadro IV. Sensibilidad y especificidad diagnóstica, valor predictivo positivo y eficiencia de los estudios paraclínicos en los diferentes grupos, siguiendo los criterios estadísticos de Bayes.

Grupo	Sensibilidad %	Especificidad %	Valor predictivo positivo %	Eficiencia %
FR	36.4	64.1	92.1	76.2
FR + CCP	41.6	86.4	95.2	78.5
PANEL	48.9	98.5	97.9	81.4

El grupo PANEL considera para el cálculo los resultados obtenidos de factor reumatoide (FR), anticuerpos antipéptidos citrulinados (CCP), RA33 y anticuerpos antinucleares (ANA). El grupo FR + CCP utiliza para el cálculo los resultados que se obtendrían si a los pacientes solamente se le hubieran realizado estos test. Los resultados del grupo FR contemplan los datos que se obtendrían si al paciente solamente se le hubiera realizado FR.

El panel aumentó notoriamente la especificidad diagnóstica (98.5%) frente a la detección única de FR (64.1%) o de forma conjunta FR más CCP (86.4%). El valor predictivo positivo pasó respectivamente de 92.1 a 97.9% con alta eficiencia 81.4% (cuadro IV).

La propuesta planteada, que nos ha resultado útil respecto de experiencias previas, no alcanza a cubrir nuestras expectativas; sin embargo, es un avance.

En un único paso del paciente por el laboratorio clínico y en pocos días cuenta con una probabilidad tres veces mayor de ser diagnosticado y se tiene una visión de pronóstico. Esto sentará las bases para un tratamiento precoz, de mayor eficacia y seguridad.

La reiteración del panel dentro de un plazo de tres a seis meses puede ser necesaria para definir el caso. Sin embargo, en estos periodos puede reiterarse más frecuentemente los parámetros inflamatorios: eritrosedimentación, proteína C reactiva, etcétera.

Cuando mayor sea el plazo en que permanecen negativos los anticuerpos del panel, más alejada la probabilidad de encontrarnos ante una artritis reumatoide.

El planteo pronóstico requiere un tiempo más prolongado de estudio para ser analizado. Sin embargo, partiendo de la literatura y siguiendo un camino lógico, aquellos pacientes que presentan mayor expresión de autoanticuerpos tendrán más repercusión articular o sistémica. Por otra parte, la mayor parte de los trabajos que utilizan RA33 plantean que los pacientes que solamente expresan éste

como único anticuerpo desarrollan enfermedades de menor riesgo y mejor pronóstico.

El costo beneficio de realizar este panel es bueno. Recordemos que muchas veces, ante la no protocolización de los estudios o ante la baja sensibilidad que ofrece la paraclínica en la artritis de reciente comienzo, existe repetición en la solicitud de estudios, que no sólo no muestra beneficio, sino que aumenta los costos sin obtener resultados ni respuestas claras. Esto sin tomar en cuenta los riesgos de un diagnóstico tardío o un tratamiento inadecuado en este tipo de pacientes con los costes económicos y sociales que esto implica.⁹

Referencias

1. Kwasnicka A, Samanta T, Shupak R. Rheumatoid arthritis: An approach to an early diagnosis and treatment. *Univ Tor Med J* 2002; 79: 117-125.
2. Visser H, Le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: A prediction model for persistent arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-365.
3. Breedveld FC, Kladen JR. An appropriate and effective management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 627-633.
4. Aletaha D, Tuhina N, Silman A et al. Criterios de Clasificación del American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1580-1588.
5. Moore T. *Clin Biochem* 1993; 26: 75.
6. Schellekens GA, De Jong BA, Van den Hoogen FH, Van de Putte LB, Van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 278-201.
7. Scott DL. Prognostic factors in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2000; 39 (suppl 1): 24-29.
8. Young A. Early rheumatoid arthritis. *Rheum Clin N Am* 2005; 31: 659-679.
9. Young A, Dixwy J, Cox N, Davies P, Devlin J, Emery P et al. How functional disability in early rheumatoid arthritis affect patients and their lives? *Rheumatology* 2000; 39: 603-611.

Procedimiento de hemovigilancia en la práctica clínica complementaria de médicos residentes en Patología Clínica

Palabras clave: Hemovigilancia, transfusión sanguínea, mejora continua en la transfusión sanguínea, reacciones transfusionales, educación en patología clínica y en medicina transfusional.

Key words: Hemovigilance, blood transfusion, continual improvement in the blood transfusion, blood transfusion reactions, education in clinical pathology and transfusion medicine.

Recibido: 16/08/2011
Aceptado: 27/10/2011

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Joel Sánchez Garduño,* Rosa María García Escamilla,**
René Rosiles Martínez***

* Maestría en Sistemas de Gestión de Calidad en Instituciones de Salud. Facultad de Contaduría. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

** Patología Clínica. Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. Comité Académico de Especialización en Medicina «Patología Clínica». División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Medicina. UNAM, Ciudad Universitaria (CU).

*** Jefe del Laboratorio de Toxicología Médica, Ambiental y Forense. Departamento de Nutrición y Bioquímica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, CU.

Correspondencia:

Dra. Rosa María García Escamilla.

Patología Clínica. Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, 04610 México, D.F. Tel: 56 27 69 00 ext. 22051. E-mail. romaescamilla@gmail.com

212

Resumen

La medicina transfusional y la normatividad correspondiente son actividades del personal médico y paramédico involucrado en el acto transfusional en los diversos hospitales del sector público y privado. El médico interno de pregrado, los residentes de las diferentes especialidades médicas y quirúrgicas, así como los médicos de diversas especialidades participan cotidianamente en la terapia transfusional, por lo tanto es de alto impacto su participación y el cumplimiento en la hemovigilancia. Con base en lo anterior se elabora este documento con el propósito de contribuir, orientar y facilitar el trabajo del personal involucrado.

1. Objetivo

Establecer los lineamientos bajo los cuales los médicos residentes en la Especialidad Médica

Abstract

The transfusion medicine and the corresponding regulations are activities of health personnel and paramedics involved in the transfusion act in the different hospitals, private and public. The undergraduate internist, residents of diverse medical and surgical specialties, as well as the doctors of different fields participate, on a daily basis, in the transfusion therapy, so their participation and their compliance with hemovigilance is of great importance. On account of it, this document is done in order to contribute, guide and facilitate the involved personnel's work.

de Patología Clínica se conducirán para el adecuado y oportuno manejo de las reacciones transfusionales en los pacientes hospitalizados en los diversos servicios de la Unidad Médica de Alta Especialidad

Hospital de Cardiología con la finalidad de garantizar la atención y el estudio adecuado de cada uno de los eventos de reacción transfusional en esta unidad.

2. Alcance

- 2.1 Este procedimiento es aplicable a todos los médicos residentes en la Especialidad de Patología Clínica con sede en esta unidad hospitalaria, independientemente del grado que se encuentren cursando.
- 2.2 En caso de existir médicos residentes en la Especialidad de Patología Clínica provenientes de otra sede, de la misma o diferente institución y que se encuentren en alguna rotación médica y/o guardias, estos lineamientos también aplicarán en ellos.

3. Políticas

- 3.1 Los médicos residentes en la Especialidad Médica de Patología Clínica deberán apegarse estrictamente a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993, «Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos», o bien de la NOM Oficial Mexicana correspondiente vigente.
- 3.2 Los médicos residentes en la Especialidad de Patología Clínica durante sus labores de hemovigilancia deben apegarse a las condiciones generales de trabajo de la Institución.
- 3.3 Las solicitudes de estudio de reacciones transfusionales deberán atenderse a cualquier hora que sean requeridas por el personal médico y paramédicos de las distintas secciones de este hospital.
- 3.4 Los jefes de servicio y personal operativo deben facilitar la intervención activa para la recolección, análisis y toma de decisiones derivadas del estudio de las reacciones transfusionales.
- 3.5 El Comité de Transfusiones de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Cardiología será el responsable de implantar decisiones y

acciones definitivas derivadas de la revisión de los reportes emitidos durante las acciones de hemovigilancia.

4. Normas aplicables

- 4.1 Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993, «Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos».
- 4.2 Norma Oficial Mexicana, «Para la organización y funcionamiento de residencias médicas».
- 4.3 Norma que establece las disposiciones para la elaboración, autorización e implantación de procedimientos en el Instituto Mexicano del Seguro Social.

5. Definiciones

- 5.1 Para la correcta aplicación de este procedimiento se entenderá por:
 - 5.1.1 Anticuerpo irregular de importancia clínica, a la inmunoglobulina inusualmente presente en el plasma (o suero) que puede causar enfermedad a través de diferentes mecanismos.
 - 5.1.2 Componentes de la sangre – hemocomponentes, fracciones separadas de una unidad de sangre u obtenidas por aféresis.
 - 5.1.3 Concentrado de eritrocitos, a la fracción que contiene principalmente glóbulos rojos, como resultante de la remoción casi completa del plasma de la sangre recolectada.
 - 5.1.4 Concentrado de plaquetas, trombocitos recolectados por aféresis o preparados mediante fraccionamiento de unidades de sangre fresca.
 - 5.1.5 Control de calidad, a los métodos que se llevan a cabo para garantizar la efectividad y funcionalidad de equipos, reactivos y técnicas, así como la viabilidad y seguridad de la sangre y de los componentes sanguíneos.
 - 5.1.6 Crioprecipitado, a la fracción proteica del plasma fresco congelado que precipita al descongelarse en condiciones controladas.

- 5.1.7 Plasma desprovisto de crioprecipitado, al remanente después de haber separado algunos factores de coagulación por técnicas de precipitación en frío.
- 5.1.8 Plasma envejecido, el que en cualquier momento después de la recolección ha permanecido seis horas o más a temperaturas por arriba de menos 18 °C.
- 5.1.9 Plasma fresco, el que se encuentra en el lapso de las primeras seis horas después de la recolección.
- 5.1.10 Plasma fresco congelado, el que se congela en el lapso de las primeras seis horas, después de la recolección y así se conserva.
- 5.1.11 Pruebas de compatibilidad, a los estudios practicados *in vitro* empleando muestras de sangre del donante y del receptor, para comprobar la existencia de afinidad recíproca entre las células de uno y el suero del otro, para efectos transfusionales.
- 5.1.12 Reacción transfusional, a la respuesta anormal o a efectos adversos que un paciente presenta o desarrolla con la administración de los diversos componentes sanguíneos.
- 5.1.13 Sangre fresca total, a la unidad que contiene tejido hemático no fraccionado suspendido en solución anticoagulante con o sin soluciones aditivas, durante las primeras seis horas cuando se colecta en ACD u ocho horas con CPD.
- 5.1.14 Transfusión alogénica, a la aplicación de sangre o componentes sanguíneos de un individuo a otro.
- 5.1.15 Transfusión autóloga, a la aplicación a un individuo, de la sangre o componentes sanguíneos recolectados de él mismo.
- 5.1.16 Transfusión autóloga mediante depósito previo, a la disposición de sangre y componentes sanguíneos que en forma anticipada se acopian para uso terapéutico del propio donante.
- 5.1.17 Transfusión autóloga mediante hemodilución preoperatoria aguda, al acto de

disposición en el que se recolecta sangre en el preoperatorio inmediato, mediante flebotomía normovolémica que diluye el tejido hemático en el paciente y la sangre recolectada se transfunde de nuevo al propio donante.

- 5.1.18 Transfusión autóloga mediante rescate celular, al acto de disposición en el que se recupera la sangre extravasada en el transoperatorio y postoperatorio, para su transfusión al mismo paciente.
- 5.1.19 Transfusión masiva, a la aplicación a un receptor de una cantidad de sangre aproximadamente igual o mayor a su volumen sanguíneo, en un lapso de 24 horas. Se considerará como tal la exsanguineotransfusión.
- 5.1.20 Unidad, al volumen de sangre o componente sanguíneo recolectado de un solo donante en una bolsa o recipiente que contenga anticoagulante adecuado y suficiente.

6. Marco teórico

6.1 Generalidades

La transfusión de componentes sanguíneos se considera como un procedimiento relativamente seguro, inocuo y eficaz. Sin embargo, la terapia transfusional conlleva el riesgo de reacciones adversas, desde las leves hasta las muy graves que incluso pueden provocar la muerte. La transfusión debe evitarse hasta donde sea posible, por lo que la indicación clínica ha de ser rigurosamente ponderada.

El personal de salud debe ser capaz de reconocer y manejar las diferentes reacciones adversas de la transfusión y emplear los medios disponibles para eliminar o minimizar tales riesgos para el enfermo.

La hemovigilancia consiste en la detección, recolección y análisis de la información obtenida de los efectos inesperados de una transfusión. Es deseable que toda la información obtenida por las acciones de hemovigilancia contribuya a mejorar la seguridad de la transfusión sanguínea:

- Proporcionando a la comunidad médica de una fuente confiable de información acerca de los efectos adversos de una transfusión sanguínea;
- Indicando las medidas correctivas requeridas para prevenir la recurrencia de algunos accidentes o malos funcionamientos en el proceso de transfusión;
- Advirtiéndolo a los hospitales y servicios de transfusión sanguínea acerca de los eventos adversos que podrían involucrar más individuos que un solo receptor, incluyendo aquéllos relacionados a la transmisión de enfermedades infecciosas.

Aunque la mayoría de las organizaciones dedicadas a la hemovigilancia se han concentrado en la observación de los eventos adversos en pacientes transfundidos, sería deseable que el objetivo de la hemovigilancia abarcara el proceso de transfusión de forma completa, desde la selección del donador hasta la transfusión del paciente; así como los efectos adversos que pueden ocurrir en cualquiera de estos pasos.

6.2 Trazabilidad de componentes sanguíneos

La trazabilidad es la capacidad para identificar los receptores actuales, de cada hemocomponente proporcionado, y, adicionalmente, la capacidad para identificar a todos los donadores de sangre involucrados en la transfusión de un determinado paciente. La trazabilidad de documentos debe incluir información en el caso de la existencia de reacciones adversas inmediatas o tardías.

6.3 Cooperación entre los servicios de transfusión sanguínea y hospitales

El reporte y análisis de los efectos no esperados de la transfusión requiere una cooperación estrecha entre los servicios de transfusión sanguínea que proporcionan componentes sanguíneos y el personal hospitalario. Esta cooperación es esencial para asegurar una investigación completa de cualquier evento adverso. En el servicio de transfusión san-

guínea, el médico involucrado debe ser el único responsable para la liberación de componentes sanguíneos, o un médico específicamente a cargo de la hemovigilancia. De forma similar, en la institución de cuidado de la salud, la persona involucrada puede ser el médico a cargo del paciente, o un médico a cargo de las investigaciones por el laboratorio, u otro médico específicamente a cargo de la hemovigilancia.

6.4 Homogeneidad del reporte

Los reportes de las reacciones inesperadas deben ser realizados de la misma forma en todas las secciones de todas las instituciones que participan en la red de hemovigilancia. Esto implica no sólo el uso de formas comunes de reportar, sino también un programa de entrenamiento para todos los participantes y una manera similar de interpretación para determinados incidentes. A este respecto, los médicos específicamente a cargo de la hemovigilancia pueden contribuir a la homogeneidad de los reportes.

6.5 Análisis de datos

Todos los reportes deben ser cuidadosamente analizados antes de su inclusión en la base de datos de hemovigilancia y la cual puede ser explotada a diferentes niveles: institucional, regional, nacional o internacional. No obstante la magnitud de la red de trabajo de hemovigilancia, cada institución debe tener acceso permanente a sus propios datos.

7. Descripción del procedimiento

Al presentarse una reacción transfusional, el médico residente de Patología Clínica vigilará que el personal del área clínica y paraclínica actúe de acuerdo con lo señalado en el *cuadro 1*.

8. Diagrama de flujo (figura 1)

Cuadro I. Procedimiento ante una reacción transfusional.

Responsable	Acción	Documento
Personal de Enfermería responsable de la transfusión	Interrumpe inmediatamente la transfusión una vez que los datos clínicos en el paciente sugieren una reacción importante a ésta (fiebre, disnea, escalofríos, dolor lumbar, urticaria, náuseas, vómito, lipotimias, etcétera).	
Personal de Enfermería responsable de la transfusión	Mantiene y asegura una vena permeable con solución fisiológica en el paciente.	
Personal de Enfermería responsable de la transfusión	Verifica la etiqueta colocada por el servicio de transfusiones de la UMAE Hospital de Cardiología en el hemocomponente, en la que se incluyen los datos del paciente, comprobando que corresponda a su destinatario.	Formato F-BS-19
Personal de Enfermería responsable de la transfusión	Confirma que el grupo "ABO" y "Rh" del paciente, que consta en la etiqueta colocada por el servicio de transfusiones en el hemocomponente, coincida con el que figura originariamente en la unidad transfundida.	
Personal de Enfermería responsable de la transfusión	Avisa al médico tratante y/o residente del servicio la existencia de una reacción transfusional, indicando nombre completo del paciente, número de cama, área y hora de inicio de la reacción transfusional.	
Personal de Enfermería responsable de la transfusión	Inicia el monitoreo de signos vitales y diuresis hasta transcurridas 48 horas del evento.	Expediente Clínico Hojas de Enfermería
Médico tratante y/o Residente del área médica	Llena la hoja-informe de reacción transfusional para su manejo posterior por el médico residente de Patología Clínica.	Anexo 1-A "Reporte de reacciones transfusionales"
Médico tratante y/o Residente del área médica	Inicia el tratamiento que considere adecuado a la condición clínica del paciente.	Expediente Clínico
Médico tratante y/o Residente del área médica	Extrae, por otra vía distinta a la de la transfusión, una muestra de sangre en un tubo con EDTA y en uno sin anticoagulante.	
Médico tratante y/o Residente del área médica	Recoge la orina del paciente lo antes posible una vez producida la reacción.	
Médico tratante y/o Residente del área médica	Asegura el correcto resguardo del remanente de hemocomponente y/o hemoderivado transfundido para su estudio por el servicio de transfusiones.	
Médico tratante y/o Residente del área médica	Entrega hoja-informe "Reporte de reacciones transfusionales", muestras postransfusión, orina y remanente de hemocomponente y/o hemoderivado transfundido al residente de Patología Clínica para su estudio por el Servicio de Transfusiones.	Anexo 1-A "Reporte de reacciones transfusionales"
Médico residente en Patología Clínica	Transporta la hoja-informe "Reporte de reacciones transfusionales", muestras postransfusión, orina y remanente de hemocomponente y/o hemoderivado transfundido al área de transfusiones, entregando todo lo anterior al químico y/o técnico responsable del área.	
Médico residente en Patología Clínica	Permanece en el servicio de transfusiones durante la realización de las pruebas de estudio de reacciones transfusionales.	
Químico y/o Técnico Laboratorista responsable del Servicio de Transfusiones	Realiza las pruebas de estudio de reacciones transfusionales según criterios establecidos en el formato correspondiente, auxiliándose en el médico residente de Patología Clínica para la interpretación de los resultados.	Anexo 1-B "Reporte de reacciones transfusionales"
Médico residente en Patología Clínica	Clasifica la reacción transfusional de acuerdo al Anexo 2 de este procedimiento y lo registra en el reporte de reacciones transfusionales.	Anexo 2 "Clasificación de las reacciones transfusionales"
Médico residente en Patología Clínica	Informa al médico tratante y/o residente del área médica el resultado de las pruebas de estudio de reacciones transfusionales, entregando original del informe y conservando una copia firmada de recibido, sugiriendo además el manejo transfusional futuro del paciente.	Anexo 1-B "Reporte de reacciones transfusionales"
Médico residente en Patología Clínica	Notifica, en la entrega de guardia, los resultados de las reacciones transfusionales en caso de haber ocurrido estas últimas durante su actividad clínica complementaria.	Formato de Reporte de Guardia.
Comité de Transfusiones de la UMAE Hospital de Cardiología	Analiza los resultados de los estudios de las reacciones transfusionales e implementa acciones correspondientes.	

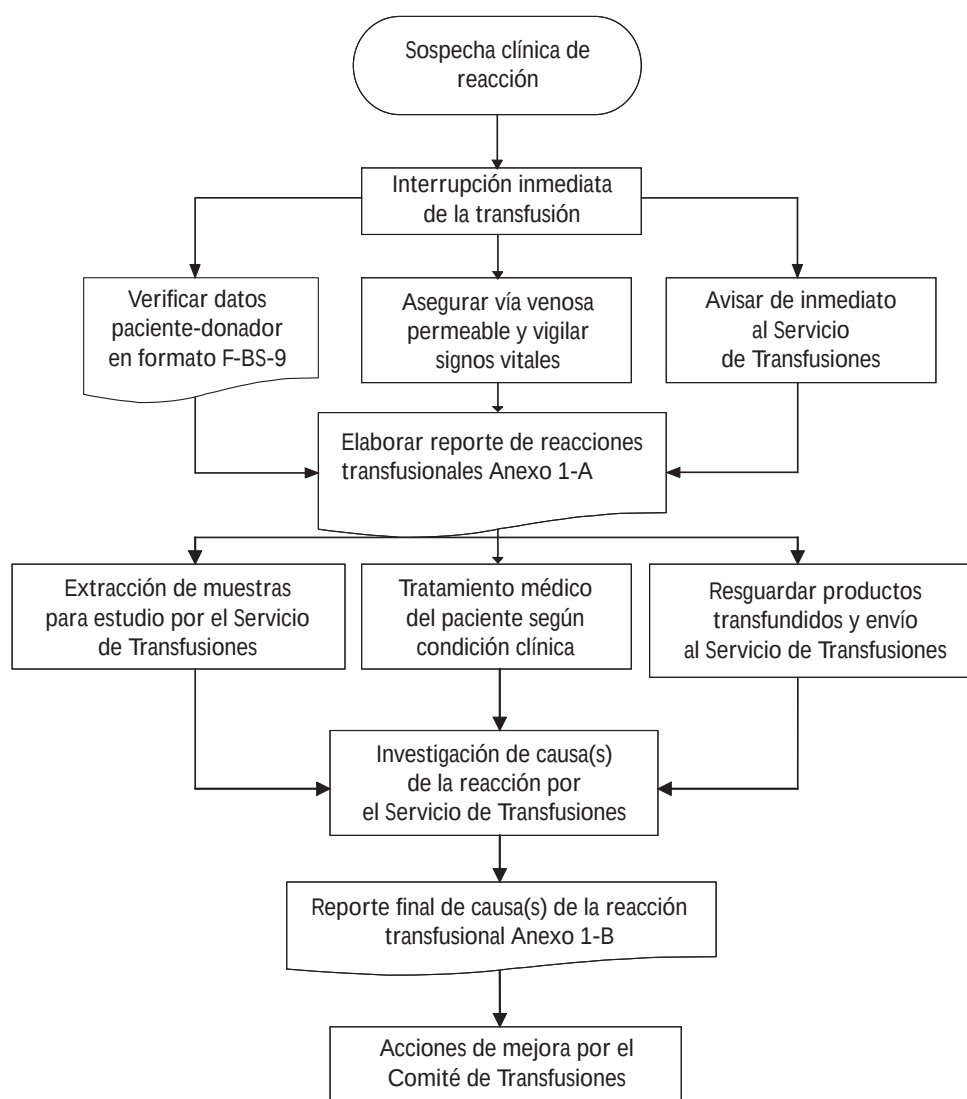


Figura 1.

9. Bibliografía

- 9.1. AMMT, AMEH. Guía para el uso clínico de la sangre. Secretaría de Salud. 3a ed. México: Asociación Mexicana de Medicina Transfusional y Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología; 2007.
- 9.2. SETS. Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. 3a ed. Madrid: Sociedad Española de la Transfusión Sanguínea; 2006.
- 9.3. OMS. El Uso Clínico de la Sangre en Medicina General, Obstetricia, Pediatría y Neonatología, Cirugía y Anestesia, Trauma y Quemaduras. Malta: Organización Mundial de la Salud; 2001.
- 9.4. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 7th ed. London: TSO; 2005.
- 9.5. Valdés-Yalile, Bencomo-Hernández A. Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2001; 17 (2): 98-107.
- 9.6. BCSH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. Transf Med 1996; 6: 273-283.
- 9.7. Alcaraz-López JL, Bonilla-Zavala R, Luna-González J. et. al. Investigación en el trabajo diario de inmunohematología. Fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos antierytrocytos. Gac Med Mex 2007; 143 (supl 2).
- 9.8. Sánchez-Garduño J, García-Escamilla RM, Magaña-Serrano JA. Anticuerpos irregulares en pacientes sometidos a cirugía cardíaca en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAE) Hospital de Cardiología. Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tesis de Posgrado. Especialidad en Medicina. Patología Clínica. 2011.

Anexos

Nombre del Hospital o Clínica
Nombre del Departamento
Servicio de Transfusiones

Anexo 1 – Parte A Reporte de reacciones transfusionales

Fecha: _____, Hora: _____.

IMPORTANTE:

Llene debidamente este formato en caso de sospecha clínica de reacción transfusional y entréguese de inmediato al Banco de Sangre que realizó las pruebas de compatibilidad acompañándolo de lo siguiente:

- Muestras postransfusionales del receptor con y sin EDTA.
- El remanente de la(s) unidad(es) implicada(s) incluyendo su equipo de transfusión utilizado.

Servicio o piso - sección en el que se realizó la transfusión: _____.

Datos del paciente (receptor) y antecedentes transfusionales:

Nombre:	Edad:	Sexo:
Diagnóstico(s):		
Servicio:	Cama:	Expediente:
Transfusiones previas:	Reacciones transfusionales previas:	
Tipo(s) de componente(s) transfundido(s):		

Transfusión actual:

Inicio:	hrs.	Componente(s) transfundido(s):						
Signos vitales (Iniciales)	FC:	x'	FR:	x'	T/A	mmHg	Temp:	°C

Término o suspensión de la transfusión: hrs.								
Signos vitales (finales)	FC:	x'	FR:	x'	T/A	mmHg	Temp:	°C

Sintomatología presentada (señale con una cruz lo observado)

Fiebre		Hipotensión		Rubor	
Diáforesis		Hipertensión		Cefalea	
Escalofrío		Urticaria		Taquipnea	
Taquicardia		Prurito		Dolor precordial	

Descripción del evento transfusional actual:

Nombre y firma del responsable del reporte: _____.

Nombre y firma de quien recibe: _____.

Servicio de Transfusiones
Anexo 1 – Parte B
Reporte de estudio de reacciones transfusionales

Fecha: _____. Hora: _____.

1) Determinación de grupo sanguíneo y Rh (anti-D)

	Grupo sanguíneo directo					Grupo sanguíneo inverso				Resultados	
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D	Ctrl Rh	G.R.A1	G.R.A2	G.R. B	G.R. O	Directo	Inverso
Muestra pretransfusión											
Muestra unidad transfundida											
Muestra postransfusión											

2) Pruebas de compatibilidad sanguínea

Donador	Prueba mayor				Prueba menor			
	S. R.	S. 37°C	S / C	C.A.G.H.	S. R.	S. 37°C	S / C	C.A.G.H.
Unidad transfundida No. _____ + Muestra pretransfusión								
Unidad transfundida No. _____ + Muestra postransfusión								

Observaciones: _____

3) Coombs Directo

	S / P	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128
G.R. Sensibilizados								
G.R. No sensibilizados								
G.R. Problema (Pre-Transf)								
G.R. Problema (Unidad Transf)								
G.R. Problema (Post-Transf)								

4) Rastreo de anticuerpos irregulares

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TESTIGO
Fase I	Salina Rápida											
Fase II	Salina 22 °C											
Fase III	Salina 37 °C											
Fase IV	Salina Coombs											
	C.A.G.H.											

RESULTADO: _____

Anticuerpo encontrado: _____

Carta panel No. _____ Válido hasta el día _____ Mes _____ Año _____

Nombre y firma de quien realizó el estudio: _____

Servicio de Transfusiones

Anexo 2

Clasificación de las reacciones transfusionales

	Grado de severidad				
Categoría	Leve	Moderada	Severa	Compromete la vida	Fatal
Febril asintomática	Temperatura de 38.0 – 39.0 °C o incremento de la temperatura > 1 °C con temperatura máxima < 39.0 °C, sin otros síntomas.	Incremento de la temperatura > 1 °C con temperatura máxima de 39.0 – 40.0 °C, sin otros síntomas.	Incremento de la temperatura > 1 °C con temperatura máxima > 40 °C que persiste por ≤ 24 horas, sin otros síntomas.	Incremento de la temperatura > 1 °C con temperatura máxima > 40 °C que persiste por > 24 horas, sin otros síntomas.	
Alérgica	Rinorrea transitoria o rash.	Rash; rinorrea; urticaria; disnea.	Broncoespasmo con o sin urticaria; agentes adrenérgicos indicados; edema relacionado a alergia y/o angioedema o hipotensión.	Anafilaxis y/o choque.	Muerte
Inflamatoria	Rigidez leve y/o temblores con o sin fiebre; malestar leve.	Temblores moderados y/o rigidez con o sin fiebre; malestar que requiere analgésicos.	Rigidez severa o prolongada y/o temblores; hipotensión con fiebre, temblores y/o rigidez o dolor, pero sin síntomas alérgicos.	Shock (por ejemplo, acidemia, alteración de la función de órganos vitales) con fiebre, temblores y/o rigidez o dolor, pero sin síntomas alérgicos.	Muerte
Mezcla alérgica y/o inflamatoria	Cualquier combinación alérgica leve y signos inflamatorios y/o síntomas.	Cualquier combinación alérgica moderada y signos inflamatorios y/o síntomas.	Cualquier combinación alérgica severa y signos inflamatorios y/o síntomas.	Cualquier combinación alérgica que comprometa la vida y signos inflamatorios y/o síntomas.	Muerte
TRALI (daño pulmonar agudo asociado a la transfusión)	Asintomático, sólo hallazgos radiográficos (infiltrados pulmonares bilaterales en radiografía frontal); sin evidencia de sobrecarga circulatoria y/o falla cardíaca.	Síntomas pulmonares, hallazgos radiográficos (infiltrados pulmonares bilaterales en radiografía frontal), saturación de oxígeno en aire ambiente, 90%; sin evidencia de sobrecarga circulatoria y/o falla cardíaca.	Síntomas pulmonares, hallazgos radiográficos (infiltrados pulmonares bilaterales en radiografía frontal) saturación de oxígeno en aire ambiente, < 90%; sin evidencia de sobrecarga circulatoria y/o falla cardíaca.	Compromiso de la vida, soporte ventilatorio indicado, sin evidencia de sobrecarga circulatoria y/o falla cardíaca.	Muerte
Hipotensión (incluida hipotensión asociada a los inhibidores de la ECA)	Cambios en la presión sanguínea sin otros síntomas alérgicos y/o por citocinas; intervención no indicada.	Cambios en la presión sanguínea sin otros síntomas alérgicos y/o inflamatorios; requieren breve reemplazo de fluidos (< 24 horas) u otra terapia; no hay consecuencias fisiológicas.	Cambios en la presión sanguínea sin otros síntomas inflamatorios y/o alérgicos requiriendo terapia sostenida (> 24 horas), resolviéndose sin consecuencias fisiológicas persistentes.	Choque (por ejemplo, acidemia, alteración de la función de órganos vitales) sin otros síntomas alérgicos y/o inflamatorios.	Muerte

Hemólisis (inmune específica o no inmune)	Evidencia de hemólisis sólo por laboratorio (por ejemplo, hiperbilirrubinemia indirecta, ast y DHL elevadas).	Evidencia de destrucción de eritrocitos y disminución o incremento inadecuado en hemoglobina; no requiere transfusión adicional.	Transfusión adicional o intervención médica (por ejemplo, esteroides) requerida.	Consecuencias catastróficas de hemólisis (por ejemplo, falla renal, hipotensión, broncoespasmo, esplenectomía urgente).	Muerte
Sepsis asociada a la transfusión	Contaminación bacteriana de producto sanguíneo transfundido con fiebre 38.0 – 39.0 °C, sin otros síntomas.	Contaminación bacteriana de producto sanguíneo transfundido con cambio en la presión sanguínea, intervención no requerida.	Contaminación bacteriana de producto sanguíneo transfundido con cambio en la presión sanguínea requiriendo terapia; resuelve sin consecuencias fisiológicas persistentes.	Contaminación bacteriana de producto sanguíneo transfundido con choque (por ejemplo, acidemia, alteración de la función de órganos vitales)	Muerte
Sobrecarga circulatoria	Asintomático; sólo hallazgos radiográficos; evidencia clínica de sobrecarga de líquidos (por ejemplo, balance de líquidos positivos).	Síntomas pulmonares no requiriendo oxígeno; evidencia clínica de sobrecarga de líquidos (por ejemplo, edema periférico, balance de líquidos positivo, hipertensión).	Síntomas pulmonares requiriendo oxígeno; evidencia clínica de sobrecarga de líquidos (por ejemplo, edema periférico, balance de líquidos positivo, hipertensión).	Compromiso de la vida, síntomas pulmonares, soporte ventilatorio indicado; evidencia clínica de sobrecarga de líquidos (por ejemplo, edema periférico, balance de líquidos positivo, hipertensión).	Muerte

Tomado de: Sanders RP et al. A revised classification scheme for acute transfusion reactions. *Transfusion* 2007; 47: 621-628.

Hormona de la oscuridad

Palabras clave: Melatonina, glándula pineal.

Key words: Melatonin, pineal gland.

Recibido: 17/02/2012

Aceptado: 24/05/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Bárbara Martínez Hiriart,* Yanelis Sánchez Morffiz,* Kenia Urra Torres,* Yanisleisy Daymara Thomas Michell,* Jorge Luis Burgos Sosa*

* Universidad de Ciencias Médicas «Dr. Carlos J. Finlay». Camagüey, Cuba.

Correspondencia:

Bárbara Martínez Hiriart

E-mail: bmh@finlay.cmw.sld.cu.

Resumen

Introducción: La melatonina es secretada por la glándula pineal o epífisis a partir del triptófano, uno de los veinte aminoácidos fundamentales que componen la materia viva. Es inhibida por la luz y estimulada por la oscuridad y se produce sintéticamente en tabletas, aplicándola no solamente en el insomnio, sino también en la anorexia y en la depresión; con acción natural citoprotectora, previene los fenómenos de daño celular y actúa como una sustancia "antienvjecimiento" celular y orgánico. **Desarrollo:** Se realizó una revisión bibliográfica donde se recopilaron datos actualizados sobre la hormona melatonina. El propósito fundamental fue identificar los principales efectos de la hormona, su relación con el proceso de envejecimiento y enfermedades asociadas.

Abstract

Introduction: Melatonin is secreted by the pineal gland or epiphysis from tryptophan, one of the twenty essential amino acids that constitute the living matter, it is inhibited by light and stimulated by darkness and it is produced synthetically in tablets, not only applied to insomnia, but also in anorexia and depression, with cytoprotective natural action, it prevents the cell damage phenomena and it acts as an "anti-aging" cellular and organic substance. **Development:** A bibliographic review was carried out where an updated data on the Melatonin hormone were collected. The fundamental purpose was to identify the main effects of the hormone, its relationship with the aging process and associated diseases.

222

Introducción

La melatonina es uno de los claros ejemplos de sustancias que han pasado del anonimato más absoluto a convertirse en una "gran estrella" en la investigación farmacológica. La razón es obvia: esta sustancia había sido identificada hacía muchos años en la sangre de diversos vertebrados poiquiloterms, especialmente en peces y anfibios donde su acción más contrastada era producir un aclaramiento de la piel, aunque también estaba muy relacionada con determinados procesos estacionales, como la reproducción. El estudio de la melatonina quedaba, por tanto, restringido a unos cuantos grupos de investigadores dedicados a resolver afanosamente el papel de esta sustancia en la fisiología de los denominados «vertebrados inferiores». El panorama

cambió cuando se descubrió que la hormona no sólo se encontraba en estos vertebrados, sino en todos (incluido el hombre) y sus acciones se extendían mucho más allá del aclaramiento de la piel de anfibios o el control de los ciclos reproductores.^{1,2}

Por ello, se plantea que fue descubierta realmente en 1969 por Axelrod y colaboradores, quienes la consideraban como una curiosidad, una rara hormona que había en la pineal de todos los vertebrados y que intervenía, sobre todo, en el desencadenamiento de la pubertad. Sin embargo, años más tarde, los aviadores descubrieron que el trastorno que se llama "jet lag" o desfase en el sueño por el cambio del horario se podía curar con tabletas de melatonina, lo cual puso de moda a esta sustancia y aplicada no solamente en el insomnio, sino también en la anorexia y en la depresión. Pero

lo que lanzó al estrellato a esta sustancia fue, sin lugar a dudas, su acción natural citoprotectora, que en muchos casos previene los fenómenos de daño celular o muerte celular y, como consecuencia, actúa como una sustancia «antienvjecimiento» celular y orgánico.³

La melatonina es una indolamina, derivado del indol (hidrocarburo que tiene un anillo hexagonal unido a uno pentagonal *figura 1*) que se produce en la glándula pineal o epífisis a partir del triptófano, uno de los 20 aminoácidos fundamentales que componen la materia viva.⁴

Normalmente, la producción de la hormona por la glándula pineal es inhibida por la luz y estimulada por la oscuridad. Por esta razón ha sido llamada «*la hormona de la oscuridad*» debido a que su secreción alcanza su pico más alto en la mitad de la noche, y gradualmente cae durante la segunda mitad. Debido a sus múltiples usos, se le conoce también como: «la hormona del sueño» o «la hormona de la juventud», entre otros.⁴

En la actualidad, como no hay suficientes estudios que hayan demostrado la seguridad de su consumo prolongado, no está disponible en todos los países. En EEUU, la *Food and Drug Administration* (FDA) no aprueba su uso como fármaco, pero en cambio se comercializa como suplemento dietético. Se comercializa en distintos países de la Unión Europea, pero su venta está prohibida en España.⁵

A pesar de que todavía no existe suficiente evidencia científica sobre los efectos beneficiosos que promete la melatonina, su uso está cada vez más extendido por todo el mundo y su consumo se ha disparado en los últimos años. Con la esperanza de mejorar la salud y prolongar la juventud, miles de personas se tratan con esta hormona. Sus beneficios son objeto de controversia entre los que defienden sus múltiples virtudes y los que recomiendan la prudencia de su uso.⁶

Lo mencionado demuestra cómo aún quedan diversos caminos en el desarrollo y la innovación con el uso de la melatonina. La interesante historia que se conoce y queda por conocer, y los innume-

rables beneficios que aporta a la salud son lo que motivaron la realización del presente trabajo, que tiene como propósito fundamental dar a conocer los principales efectos de la hormona que todavía son tan desconocidos, a pesar de sus múltiples usos. El propósito fundamental fue identificar los principales efectos de la hormona, haciendo énfasis en su relación con el proceso de envejecimiento y enfermedades asociadas.

Desarrollo

La melatonina o N-acetil-5-metoxitriptamina es una hormona encontrada en todos los organismos vivos, en concentraciones que varían de acuerdo con el ciclo diurno/nocturno. Es sintetizada a partir del neurotransmisor serotonina. Se produce, principalmente en la glándula pineal, la cual está localizada en el centro del cerebro, en la superficie dorsal del diencefalo. Participa en una gran variedad de procesos celulares, neuroendocrinos y neurofisiológicos. Una de las características más sobresalientes respecto a la biosíntesis pineal de melatonina es su variabilidad a lo largo del ciclo de 24 horas, y su respuesta precisa a cambios en la iluminación ambiental. Por ello, la melatonina se considera una neurohormona con función pertinente en la fisiología circadiana. Muchos de sus efectos biológicos se deben a su acción sobre receptores de melatonina y, otros más, a su potente acción como antioxidante, el cual juega un papel muy especial en la protección del ADN nuclear y mitocondrial.^{3,7}

En animales superiores, la melatonina es fabricada por los pinealocitos de la glándula pineal, la cual produce la hormona bajo la influencia del núcleo supraquiasmático del hipotálamo, que recibe información de la retina acerca de los patrones diarios de luz y oscuridad.⁸ La glándula pineal de los humanos tiene un peso cercano a 150 miligramos y ocupa la depresión entre el colículo superior y la parte posterior del cuerpo calloso. A pesar de la existencia de conexiones entre la glándula y el cerebro, aquella se encuentra fuera

de la barrera hematoencefálica y está innervada principalmente por los nervios simpáticos que proceden de los ganglios cervicales superiores. A fines de los años 50, Lincoln y colaboradores aislaron la melatonina producida a partir de pinealocitos bovinos y lograron describir su estructura química: 5-metoxi-Nacetiltryptamina.⁹

Si bien durante mucho tiempo se consideró que la hormona era de origen exclusivamente cerebral, en la actualidad se ha demostrado que la biosíntesis del metoxindol también es producida por tejidos de otros órganos como la retina, la glándula pineal, el hígado, el intestino, los riñones, las adrenales, el timo, la glándula tiroides, las células inmunes, el páncreas, los ovarios, el cuerpo carotideo, la placenta y el endometrio.⁹

En el *Homo sapiens* se produce una síntesis constante de la hormona, que disminuye abruptamente hacia los 30 años de edad. Después de la pubertad se va produciendo una calcificación llamada «arenilla del cerebro», que recubre la glándula pineal, aunque ésta sigue produciendo melatonina.

Estudios recientes observan que la hormona tiene entre otras funciones (además de la hipnóinductora), la de disminuir la oxidación; por esto su déficit casi siempre va acompañado de efectos psíquicos: insomnio y depresión, mientras que, en la metabolización, el déficit de melatonina parecería tener por contraparte una paulatina aceleración del envejecimiento.¹⁰

Alimentos que poseen precursores de la hormona

Avena, maíz, vino tinto, tomates, cerezas, patatas, nueces y arroz.²

Regulación de liberación de la melatonina

La liberación de melatonina es un proceso de fototransducción, que se estimula en oscuridad a través del ojo, enviando señales nerviosas que, a través del tracto retinohipotalámico, hace escala

por el núcleo supraquiasmático, sale por la médula al ganglio cervical superior y de allí a la glándula pineal. Por tanto, la glándula pineal es un transductor neuroendocrino. La glándula pineal puede detectar algo de luz.¹¹

Los factores que modulan la secreción de la melatonina se pueden dividir en dos grupos bien diferenciados:

Ambientales: fotoperiodo, estaciones del año, temperatura.

Endógenos: estrés y la edad.

Hay tres patrones de secreción de melatonina.

El tipo 1 es el que posee el hámster sirio (un pico brusco).

El tipo 2 es propio de la rata albina y el humano (un aumento gradual hasta alcanzar el pico de secreción)

El tipo 3 es el de la oveja (un aumento gradual, se alcanza el máximo y se mantiene un tiempo hasta que vuelve a disminuir).

La melatonina permite la transducción del mensaje fotoperiódico, informando el día, la noche y la estación del año.¹²

Metabolismo

La serotonina (5'-hidroxitriptamina) alcanza sus mayores concentraciones en la glándula pineal. Los mayores picos se originan en la oscuridad y los menores en las horas de luz. Eso es porque el paso limitante de la síntesis de melatonina es la enzima NAT (N-acetil transferasa). Esta enzima tiene menores niveles de actividad durante el día y mayores por la noche, y es la encargada de pasar la serotonina a N-acetil serotonina. La HMT (hidroxil-indol metil transferasa) acaba el ciclo con la síntesis de melatonina. Una vez que se estimula, el pinealocito segrega melatonina a la sangre, unida a albúmina (65% de las ocasiones) o libre (35%). La vida media de la serotonina es de 10-15 minutos. Es metabolizada en sangre, hígado o cerebro, entre las 23:00 y las 7:00 del día siguiente de la producción. En el hígado la 6-OH-melatonina pasa

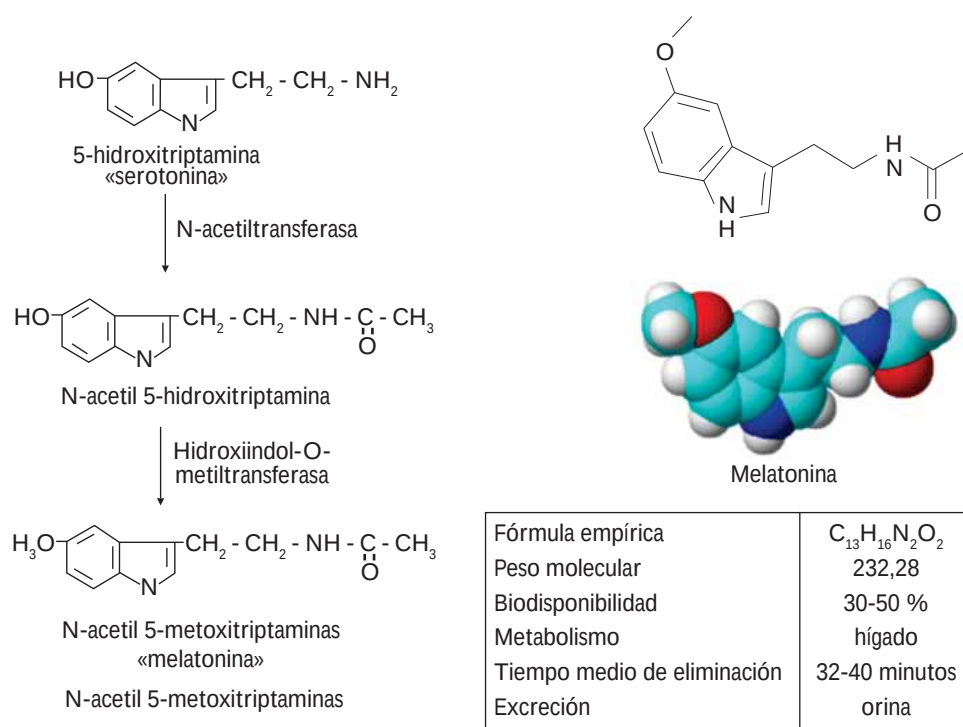


Figura 1. Estructura química de la melatonina.

Imágenes en color en: www.medigraphic.com/patologiaclinica

a sulfato y glucuronato y va a la orina. En el cerebro pasa a compuestos derivados de la quinoneimina. Las señales hormonales acompañan a las señales nerviosas que llegan a las terminaciones nerviosas del ganglio cervical superior.^{13,14}

Distribución

La melatonina producida en la glándula pineal actúa como una hormona endocrina, ya que es liberada al torrente circulatorio, mientras que la producida en la retina y en el tracto gastrointestinal actúa como una hormona paracrina.¹⁵

Los lugares de acción de la melatonina son: *Neurales*: hipocampo, hipófisis, hipotálamo, retina, glándula pineal y otros. *No neurales*: gónadas, intestino, vasos sanguíneos, células inmunes, y otros.

Rol de la melatonina

Los receptores de esta hormona son específicos, saturables y reversibles. Los lugares de acción

neurales afectan a los ritmos circadianos. Los no neurales afectan a la función reproductora y los periféricos tienen diversas funciones.¹⁵

Se ha visto que los tumores pineales pueden llevar a una pubertad precoz; por ello, la administración depende de la especie y el momento de su tratamiento. La mayoría de los animales tienen ciclos de fertilidad e infertilidad. Hay reproductores de días largos y de días cortos. Los primeros se activan con el aumento de la duración del fotoperiodo, y los segundos por la disminución. La pinealectomía bloquea los efectos de la luz sobre la función gonadal. La administración de melatonina reproduce el fenómeno en los animales pinealectomizados. Los reproductores de días cortos tienen su actividad máxima en invierno. Luego la melatonina no es ni progonadal ni antigonadal, sino que es una señal cronológica circulante que informa al organismo del momento en que se encuentra (información de calendario); es una interacción neuroendocrino-reproductor. Estudios recientes han concluido que la administración de la hormona en mujeres peri-

menopáusicas produce una mejora significativa en el funcionamiento tiroidal y los niveles de gonadotropinas, así como una restauración de la fertilidad y la menstruación previniendo la depresión asociada con la menopausia.¹⁶

Los receptores de la hormona parecen ser importantes en los mecanismos de aprendizaje y memoria. Por esto, puede alterar los procesos electrofisiológicos asociados con la memoria, como la potenciación a largo plazo (LTP). Puesto que el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) se suele tratar con metilfenidato (MFD) (el cual causa insomnio en 54% de los pacientes), la melatonina se administra para reducir este efecto secundario. Muchos estudios clínicos indican que su suplementación es un tratamiento efectivo contra las migrañas y las cefaleas, también ha demostrado ser efectiva contra un tipo de depresión y el desorden afectivo estacional (SAD).^{17,18}

Efectos de la melatonina

226

En el sistema inmune. La melatonina influye sobre las enfermedades desencadenadas por fallos del sistema inmunológico como: SIDA, cáncer, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares, cambios de ritmo diarios, sueño y afecciones psiquiátricas. Los cambios de ritmos están asociados al «jet lag» (pasajeros de viajes transoceánicos), trabajadores de turno de noche y síndrome de retraso de la hora de sueño. Se ha comprobado que reduce el daño en tejidos debido a isquemia, tanto en cerebro como en corazón; sin embargo, no ha sido probado en humanos.¹⁸

Aunque se sabe que actúa sobre el sistema inmune, los detalles permanecen confusos. Tiene receptores en los linfocitos T colaboradores (membrana, citoplasma y núcleo), y producen interleuquina 4, que a su vez provoca la producción de inmunoglobulina A en las células B. También estimula a los fagocitos y T citotóxicos. A concentraciones farmacológicas inhibe la formación de radicales libres en fagocitos.¹⁸

Existen al menos tres razones que avalan la posible eficacia de la hormona como adyuvante en la terapia contra el SIDA porque:

1) Modula el sistema inmune. 2) Es un potente antioxidante, a pesar de que su primer sitio de acción son los receptores de melatonina. 3) Puede ralentizar la replicación del virus VIH.¹⁸

La pinealectomía estimula el crecimiento tumoral desencadenando linfomas, melanomas, carcinoma gástrico, cánceres de mama, próstata, cerebro, colon rectal, hígado, pulmón, páncreas y testículos, además de otros carcinomas como el renal celular y sarcoma de tejido blando (en general cánceres hormona-dependientes). Los mejores efectos se consiguen introduciendo concentraciones fisiológicas bajas que reducen la aparición de estos procesos. En general, se supone que la melatonina influye directamente en el cáncer de mama a través del sistema inmunitario, e indirectamente mediante el sistema neuroendocrino que a su vez regula al inmunitario. El sistema inmune atacaría las células tumorales desactivándolas. La vitamina B12 promueve la actividad metastásica, por lo que se desaconseja tomarla con un tratamiento contra células tumorales. Sin embargo, se necesitan más estudios para corroborar esto.¹⁸

El tratamiento del cáncer. Diversos ensayos en humanos han estudiado los beneficios de la hormona y los efectos secundarios relacionados con distintos tipos de quimioterapias contra el cáncer. No obstante, estos beneficios prematuros son prometedores, se necesitan ensayos controlados de alta calidad antes de llegar a una conclusión firme en esta área. Todavía no es claro si la melatonina reduce de manera segura los efectos secundarios de diferentes quimioterapias sin alterar su eficacia.¹⁸

El sueño y el desfase de horarios. El síndrome de la fase retardada del sueño es una afección que resulta en la demora para conciliar el sueño, a pesar de patrones normales de éste y su duración. Estos resultados son prometedores, se necesitan investigaciones adicionales con estudios más grandes antes de hacer una recomendación más

sólida. Muchos consumidores de melatonina han experimentado un mayor realismo y frecuencia en sus sueños, y mejora de la calidad.¹⁹

La desadaptación horaria (*«jet lag»*) afecta con frecuencia a los que viajan en avión y cruzan varias zonas horarias. La misma es el resultado de que los ritmos internos del cuerpo se desajustan con el ciclo día-noche de la zona de destino.¹⁹

Existen varios ensayos que investigan el uso de melatonina en niños que padecen de diversos trastornos neuropsiquiátricos, incluidos retardo mental, autismo, trastornos psiquiátricos, impedimento visual y epilepsia. Los estudios han demostrado un menor tiempo para dormir (latencia del sueño) y mayor duración del sueño. Se necesitan ensayos controlados bien diseñados entre poblaciones de pacientes selectos antes de hacer una recomendación más específica.²⁰

Varios estudios en humanos informan que ingerir melatonina por vía oral antes de acostarse disminuye el tiempo necesario para conciliar el sueño («latencia del sueño») en ancianos que padecen de insomnio. También se han reportado mejorías en la calidad del sueño y en el estado de alerta en las mañanas. La mayoría de los ensayos son de breve duración (varios días), por lo que se desconocen los efectos a largo plazo.²⁰

Otras investigaciones han medido los efectos de los suplementos de melatonina en el sueño de individuos saludables. Se han usado una amplia gama de dosis, a menudo por vía oral entre 30 y 60 minutos antes de la hora de dormir. La mayoría de los ensayos son pequeños y breves, y sin un diseño o método de informe riguroso. No obstante, el peso de la evidencia científica sí indica que reduce el tiempo necesario para conciliar el sueño, aumenta la sensación de «somnolencia» y la duración del sueño. Se necesitan mejores investigaciones en esta área.²⁰

Hay estudios limitados de esta hormona en cuanto a su propiedad para mejorar los trastornos de sueño relacionados con la enfermedad de Alzheimer (incluidos la agitación nocturna o la poca

calidad en el sueño de pacientes con demencia). Se ha conocido que los niveles naturales de ésta se alteran en las personas que padecen de la enfermedad; no obstante, es todavía incierto si la suplementación de melatonina es de beneficio. Aún se necesita mayor nivel de investigación.²⁰

Varios estudios en humanos indican que la melatonina por vía oral, iniciada el día del viaje (cercana a la hora de acostarse en el lugar de destino) y continuada por varios días, reduce el número de días necesarios para establecer un patrón de sueño normal, acorta el tiempo necesario para dormirse («latencia del sueño»), mejora el estado de alerta aminorando la fatiga durante el día.²¹

Los niños. Se cuenta con investigaciones limitadas acerca del uso de la melatonina en niños que padecen de trastornos por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), tanto para el tratamiento de dicho trastorno como para el insomnio de quienes lo padecen. Se han reportado efectos benéficos en la calidad del sueño; sin embargo, no se ha notado un efecto en los problemas de comportamiento.²²

En las enfermedades de células, tejidos y órganos. Se ha establecido la teoría de que altas dosis de melatonina pueden aumentar la presión intraocular y el riesgo de glaucoma, maculopatía y miopía relacionadas con la edad, o la lesión retinal. Sin embargo, existe evidencia preliminar de que ésta puede en realidad disminuir la presión intraocular en el ojo y retrasar la degeneración macular, entonces se ha sugerido como una posible terapia para el glaucoma. Se necesitan estudios adicionales en esta área. Los pacientes con glaucoma que toman melatonina deben recibir la supervisión de un profesional de la salud.²³

Varios estudios pequeños han examinado la posible función de la melatonina para evitar las diferentes formas de dolores de cabeza, incluida la migraña, la cefalea en brotes y tipo tensional, y otros síndromes de dolor de cabeza (en personas que padecen cefaleas habituales). Algunas investigaciones iniciales indican posibles beneficios en los

tres tipos de dolor de cabeza, aunque se necesitan estudios controlados bien diseñados antes de llegar a una conclusión.²³

Estudios controlados en pacientes con alta presión sanguínea informan de pequeñas reducciones en la presión sanguínea al tomar melatonina por vía oral o al inhalarla por las fosas nasales (intranasal). También puede disminuir la lesión cardíaca durante la isquemia-reperusión. Se necesita más investigación en esta área antes de poder llegar a una conclusión clara.²³

Un ensayo clínico encontró que cuando se usa melatonina con zinc y la droga para la diabetes, metformina, se pueden mejorar las complicaciones relacionadas con la diabetes, tales como el perfil lipídico deficiente. Sin embargo, también existen evidencias de que la melatonina aumenta los niveles de colesterol. Según estudios preliminares, puede mejorar el sueño en pacientes con asma, por lo que se necesitan más estudios que observen los efectos a largo plazo en la inflamación de las vías aéreas y en la hiperreactividad bronquial antes de recomendar su uso.²³

Efectos generales. Algunos de los efectos que se mencionan a continuación requieren de grandes estudios preliminares, aunque se hayan obtenido resultados favorecedores en algunos pacientes.

- 1) Enfermedad inflamatoria del intestino.
- 2) Enfermedad de Parkinson.
- 3) Síndrome de Rett. Se presume que éste es un trastorno genético que afecta a niñas, y se caracteriza por crecimiento desacelerado de la cabeza y regresión global en el desarrollo que trae consigo trastornos para conciliar el sueño.
- 4) Sarcoidosis.
- 5) Esquizofrenia. En pacientes esquizofrénicos con insomnio se han reportado mejorías en la calidad y profundidad del sueño, menor número de veces que se despertaron durante la noche y aumento en la duración del sueño sin producir resaca en la mañana.
- 6) Trastornos del sueño debido a lesiones cerebrales en la región pineal. Varios casos publicados reportan mejorías en los patrones de sueño de

personas jóvenes con lesiones en el área de la Glándula Pineal del cerebro debido a tumores o cirugías. Dado lo raro de tales trastornos, los ensayos controlados no son posibles. La consideración de administrar Melatonina a tales pacientes debe hacerse bajo la dirección de un proveedor de cuidados de salud.

- 7) Discinesia tardía asociada con el uso de haloperidol (tranquilizante). La discinesia tardía es un efecto secundario potencial de gravedad producto de los medicamentos antipsicóticos, la cual se caracteriza por movimientos musculares involuntarios. Algunos estudios acerca del uso de melatonina en estos pacientes han reportado hallazgos mixtos y muy favorables.
- 8) Trombocitopenia (bajo nivel de plaquetas). Existe mayor conteo de plaquetas después del uso de melatonina en pacientes con bajo nivel de éstas debido a terapias contra el cáncer, desatándose una estimulación de la trombopoyesis.
- 9) Protección contra los daños en la piel causados por los rayos ultravioleta. Presenta propiedades antioxidantes que podrían ofrecer protección. Los resultados son mixtos. Se necesitan estudios adicionales antes de llegar a una conclusión más firme acerca de la eficacia clínica en humanos.
- 10) Trastornos urinarios (micción frecuente, nocturna). Se plantea que la melatonina puede tener efectos benéficos para el alivio de la nocturia en los ancianos.²⁴

Efectos secundarios de la melatonina y advertencias

Con base en los estudios disponibles y el uso clínico, la melatonina, por lo general, se considera segura en las dosis recomendadas para el uso a corto plazo (tres meses o menos). No obstante, los informes de casos presentan inquietudes acerca de los riesgos de anormalidades de coágulos de sangre (particularmente en pacientes que toman warfarina), mayor riesgo de convulsiones y desorientación con sobredosis.²⁵

Los efectos adversos comúnmente reportados incluyen fatiga, mareo, dolor de cabeza, irritabilidad y somnolencia; sin embargo, estos efectos pueden ocurrir a causa del desfase horario (*jet-lag*) y no por la melatonina misma. Puede ocurrir fatiga particularmente con el uso por las mañanas o en dosis más altas, y pueden darse ciclos irregulares de sueño y despertar. También se han observado desorientación, confusión, sonambulismo, sueños y pesadillas vívidos, los cuales se han resuelto después de discontinuar la melatonina. Debido al riesgo de sueño durante el día, se debe tener precaución al manejar u operar maquinaria pesada. La melatonina también puede causar infecciones. Puede ocurrir ataxia (dificultades al caminar y con el equilibrio) con una sobredosis.²⁶

La literatura refiere que la melatonina puede reducir el umbral de convulsiones y aumentar el riesgo de las mismas, especialmente en niños con trastornos neurológicos agudos. No obstante, muchos otros estudios sí informan una menor incidencia de convulsiones con el uso habitual de melatonina. Ésta sigue siendo un área de controversia. Los pacientes que padecen de trastorno convulsivo que toman melatonina deben recibir la supervisión cercana de un profesional médico.²⁷

Se han informado cambios en el humor, incluidos atarantamiento y disforia (tristeza). Se han reportado síntomas sicóticos, incluidas alucinaciones y paranoia, posiblemente a causa de una sobredosis. Los pacientes con depresión aguda subyacente o trastornos sicóticos que toman melatonina deben recibir la supervisión cercana de un profesional de la salud.²⁷

Evitar el uso de melatonina en pacientes que toman warfarina, y otros medicamentos adelgazantes de la sangre o con trastornos de formación de coágulos,²⁶ así como en los que toman medicamentos para reducir la presión sanguínea porque la hormona la disminuye por sí sola, causando males mayores. También debe evitarse su uso en sujetos con aumentos en los niveles de colesterol, arterosclerosis, o en riesgo de enfermedad cardiovascular.²⁸

Se han reportado niveles mayores de azúcar en la sangre (hiperglucemia) en pacientes con diabetes tipo 1 (diabetes dependiente de insulina) que ingieren melatonina porque ésta reduce aún más la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Se recomienda precaución a pacientes con diabetes o hipoglucemia, y a aquellos que toman medicamentos, hierbas o suplementos que afectan el azúcar en la sangre. Podrían ser necesarios la supervisión de los niveles séricos de glucosa por parte de un proveedor médico y los ajustes de medicamentos.²⁹

Se informan que cuando disminuye la melatonina o es ingerida en dosis elevadas disminuyen los niveles de la hormona luteinizante, progesterona, estradiol, hormona de la tiroides (T4 y T3), hormona del crecimiento, prolactina, cortisol, oxitocina y vasopresina. Se han informado casos de ginecomastia (aumento del tamaño del pecho) en los hombres, así como poca motilidad y menor cantidad de espermatozoides.³⁰

Comúnmente se han referido molestias gastrointestinales leves, incluyendo náuseas, vómito o calambres. La melatonina se ha relacionado con un caso de hepatitis autoinmunitaria; también se ha asociado con la activación de los síntomas de la enfermedad de Crohn.²⁹

Se debe evitar la suplementación con melatonina en las mujeres embarazadas o que intentan quedar embarazadas, debido a posibles efectos hormonales. Los altos niveles de la hormona durante el embarazo pueden aumentar el riesgo de trastornos en el desarrollo del feto. En los estudios en animales, se detectó melatonina en la leche materna, por lo que se debe evitar durante la lactancia.²⁰

Advertencias. No se debería tomar melatonina antes de conducir o de manejar maquinaria que requiera gran concentración. Generalmente recomendamos que no se practique la automedicación y que se consulte a un médico antes de cada toma. Recomendación que va dirigida especialmente a aquellas personas que consumen medicamentos de manera habitual.³⁰

Efectos sobre el envejecimiento

El envejecimiento es un estado multifactorial de degeneración y muerte celular en el que intervienen en gran medida los radicales libres por acúmulo lento y progresivo de oxígeno y de nitrógeno en el organismo. Durante las enfermedades neurodegenerativas, la mitocondrias alteradas por el estrés oxidativo, son incapaces de mantener las demandas de energía de la célula, dando lugar a una mayor producción de radicales libres desencadenándose procesos como la apoptosis. Ante esta situación, el uso de melatonina (poderoso antioxidante) es esencial para reducir los efectos de los radicales libres como el hidroxilo ($\text{OH}^\cdot$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), preferentemente.

Experimentos *in vivo* han demostrado que la administración de melatonina aumenta la actividad de los complejos I y IV de la cadena de transporte electrónico mitocondrial. Para caracterizar este efecto, se han hecho una serie de experimentos *in vitro* en los cuales las mitocondrias se incubaron con t-butil hidroperóxido para inducir estrés oxidativo. Concentraciones bajas de la hormona fueron suficientes para aumentar el contenido mitocondrial de glutatión reducido, y de la actividad de los complejos de la cadena de transporte electrónico. Asimismo, la melatonina aumentó la producción ATP en esas mitocondrias, contrarrestando completamente el daño oxidativo mitocondrial inducido por el t-butil hidroperóxido. Es importante notar que las vitaminas E y C fueron incapaces de recuperar la actividad normal de la mitocondrias tras el daño oxidativo, aun a concentraciones 1,000 veces mayores que las de melatonina.²⁹

Basados en todos los estudios descritos arriba, puede deducirse que la caída en la producción de melatonina con la edad está relacionada con el envejecimiento y el inicio de las enfermedades de la vejez. A su vez, el envejecimiento también deteriora la función pineal, y del resto de los órganos que producen la hormona, lo que decrece su producción con la edad. La melatonina protege

normalmente las células de los radicales libres, pero algunos de ellos escapan produciendo un daño significativo en las células.²⁹ El daño en las neuronas del núcleo supraquiasmático (NSQ), el reloj biológico que regula la síntesis de melatonina en la pineal lleva a una alteración del ritmo circadiano de la melatonina. Se produce entonces menor cantidad de este indol, que protege menos al núcleo supraquiasmático (NSQ), iniciándose así un círculo vicioso que lleva a una caída mucho mayor de melatonina, desapareciendo su efecto protector, con lo que células y tejidos aumentan su susceptibilidad a los agentes oxidativos.

La reducción de la melatonina con la edad disminuye la función neuroendocrina y la eficiencia del sistema inmune.³⁰

Por otro lado, el patrón rítmico de melatonina es esencial para la normal función del organismo. Cuando este ritmo se deteriora, el envejecimiento y las alteraciones asociadas a él aparecen. Si la melatonina proporciona un retraso significativo de las consecuencias del envejecimiento, puede representar un hallazgo muy importante.

En conclusión, la melatonina contrarresta el exceso de radicales libres producidos durante la actividad mitocondrial y depura aquellos que pueden dañar a la mitocondria. Mantiene altos los niveles (más de 85%) de glutatión reducido intramitocondrial, evitando que estos organelos tengan que obtenerlo del citosol. De esta forma aumenta la capacidad de las mitocondrias para producir el ATP requerido para la función celular. Debido a la relación entre daño mitocondrial, envejecimiento y radicales libres, los efectos de la melatonina aquí descritos pueden también explicar las propiedades anti-envejecimiento y antiapoptóticas de la Melatonina.³¹

Otros autores plantean que en la especie humana existen grandes variaciones en la producción de melatonina a lo largo de la vida (además de las variaciones diarias ya señaladas), siendo los niveles más altos en la infancia, declinando luego en la pubertad y, finalmente, disminuyendo considerablemente en la vida adulta.

Los experimentos con animales y con cultivos celulares sugieren que la melatonina puede tener efectos beneficiosos sobre ciertos aspectos del envejecimiento y enfermedades asociadas al mismo. De especial interés son los posibles efectos de la melatonina sobre el sistema nervioso central. Dada su alta lipofilia (atravesaría fácilmente la barrera hematoencefálica) y su naturaleza no tóxica, la melatonina puede ser una molécula efectiva e importante en el sistema de defensa antioxidante en el cerebro. Actualmente se dedican numerosos esfuerzos para tratar de averiguar si, como ocurre en el timo, la melatonina podría inhibir la muerte celular que ocurre en enfermedades neurodegenerativas asociadas al envejecimiento tales como Alzheimer o Parkinson.³¹

Si la disminución natural en la producción de melatonina asociada con la edad es o no responsable de algunos de los síntomas del envejecimiento está aún por demostrar, aunque se han notificado mejoras importantes en la calidad de vida de personas de edad avanzada tras la administración exógena de esta hormona. En cualquier caso, se necesitan más datos experimentales para poder clarificar los posibles lugares y mecanismos de acción, así como estudios clínicos para identificar los posibles efectos secundarios que podría acarrear un tratamiento prolongado con melatonina, especialmente en ancianos y personas enfermas.³¹

Conclusiones

- La melatonina es una hormona que no sólo es sintetizada por la glándula pineal, sino que en este proceso también intervienen diversos órganos como los testículos y la retina.
- La hormona participa en una gran variedad de procesos celulares, neuroendocrinos y neurofisiológicos, pero su principal función consiste en la regulación de los ritmos circadianos (diurno/nocturno).
- Experimentos con animales y cultivos celulares han permitido el descubrimiento de los efectos

beneficiosos y perjudiciales de la indolamina sobre diversos sistemas y órganos de la economía; de especial atención es la degeneración del sistema osteomioarticular y vascular que se produce como consecuencia del envejecimiento y enfermedades asociadas al mismo por déficit de la melatonina, aunque se necesitan más ensayos para proporcionar mejor información en esta área.

- Los efectos adversos comúnmente reportados a la hormona incluyen fatiga, mareo, dolor de cabeza, irritabilidad y somnolencia aunque también se han observado desorientación, confusión, sonambulismo, sueños y pesadillas. Se le recomienda a los pacientes que estén tomando otros medicamento que tengan precaución en su uso, para ello es aconsejable que visite a su médico familiar.

Referencias

1. Arendt J, Aldhous M, Writght J. Synchronization of a disturbed sleep- wake cycle in a blind man by melatonin treatment. *Lancet* 1988; 1 (8588): 772-773.
2. Bellipanni G, Di Marzo A. Effects of melatonin in perimenopausal and menopausal woman: our personal experience. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1057: 303-402.
3. Boutin J, Audinot V, Ferry G, Delagrang P. Molecular tools to study melatonin pathways and actions. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26 (8): 412-419.
4. Caniato R, Filippini R, Piovani A, Puricelli L, Borsarini A, Cappelletti E. Melatonin in plants. *Adv Exp Med Biol* 2003; 527: 593-597.
5. Dodick D, Capobianco D. Treatment and management of cluster headache. *Curr pain headache Res* 2005; 5 (1): 83-91.
6. Gagnier J. The therapeutic potential of melatonin in migraines and other headache types. *Altern Med Rev* 2001; 6 (4): 383-389.
7. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine* 2005; 27 (2): 119-130.
8. Lewis A. Melatonin and the Biological Clock. New York, NY: Mc Graw-Hill; 2006. p. 7.
9. Lincoln G, Andersson H, Luodon A. Clock genes in calendar cell as the basis of annual timekeeping in mammals- a unifying hypothesis. *J Endocrinol* 2006; 179 (1): 1-13.
10. Maestroni G. Therapeutic potential of melatonin in immunodeficiency states, viral diseases, and cancer. *Adv Exp Med Biol* 2007; 467: 217-226.
11. Zemplán FP, Mulchahey JJ, Scharf MB. The efficacy and safety of the melatonin agonist beta-methyl 6-chloromelatonin in primary insomnia: a randomized, placebo-controlled, crossover clinical trial. *J Clin Psychiatry* 2005; 66 (3): 384-390.
12. Melatonina y Depresión. Forumclinica 2006, web médica realizada por especialistas del Hospital Clínico de Barcelona. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/natural/patient-melatonin.html>.

13. Lazar MA, Werner and Inguar. The Melatonin 6 the, Philadelphia, JB lippincott, 2005. Disponible en: <http://www.dsalud.com/numero835.html>.
14. Vassart G, Dumont JE: The melatonin receptor and the regulation, Function Endocrinal Rev. 13. 596,2005. Disponible en: <http://www.lne.es/seccioness/noticias.jspNumEjemplar=1540&pldSeccion=46&pldNoticia=490009>.
15. Lewwy Aj, Wehr TA, Butwin SK, et al. Light Supresses. Melatonin Secretoria in Humans. Science 2004; 210: 1267.
16. Bosch FX, Robhan T, Schneider A, Frasear I, Pfister H, Castellsagué X et al. Melatonin research update: highlights of the Barcelona international conference. J Clin Pathol 2004; 54: 163-175.
17. Archivo médico 2004 disponible en: <http://www.cesdepu.com/decretos/28791-S.17-JUL-2000.htm>.
18. Salud hoy – Actualizado febrero de 2003. Disponible en: <http://www.saludhoy.com/htm/exam/articulo/citolog2.html>.
19. Arnheim H, Erlich H. Polymerase Cain reaction strategy. Ann Rev Biochem 1999; 61: 131-156.
20. Dodick D, Capobianco D. Treatment and management of cluster headache. Curr Pain Headache Resp 2005; 5 (1): 83-91.
21. Jastreboff AM, Cymet T. Role of human melatonin in the development of and malignancy. Postgrad Med J 2002; 78: 225-228.
22. MedNews 2005. Disponible en: <http://www.ampersandisi.com/ginecoweb/cancer.htm>.
23. Christopher P. Human Mealtonin Type 16 early. N Engl J Med 2006; 2 (3): 310.
24. Senties MH, Estañol VB. Cefalea en racimos. Med UIS [internet] 2009 sept-dic [citado 25 ene 2012]; 22 (3). Disponible en: <file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20%28p%C3%A1gina%201%29.html>
25. Mesa VMC, Rueda MM, Zayas CR, Sicard SD, Groot RH. Acción protectora de la melatonina sobre células mononucleares de sangre periférica humana sometidas a radiación gamma Co60. Univ Sci; [internet]. 2009 ene-abr [citado 25 ene 2012]; 14 (1). Disponible en: [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)
26. Bastos FF. Melatonina, isoenzimas de glutatona S-transferases e estresse oxidante em pacu *Piaractus mesopotamicus*. Rio de Janeiro [internet]. 2010[citado 28 ene 2012]. Disponible en: [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)
27. Reis LC, Gomes R, da Silva SA, Borges CJ, de Souza L, Spadaro F, Santos MB, Collus OL. Alterações metabólicas e da bioquímica plasmática após pinealectomia em ratos. Rev Med Minas Gerais [internet]. jul.-sept. 1996. [citado 28 ene 2012]; 6 (3) [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)
28. Aktas AT, Yildirim A, Nergiz Y, Akkus M. Protectores de la Melatonina en el Daño por Torsión y Destorsión Testicular en Ratas Sprague-Dawley. Int J Morphol [internet]. 2011 Mar [citado 28 ene 2012]; 29 (1). Disponible en: [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)
29. Saad Krime, R Luiz Carlos. Influência da melatonina sobre o desenvolvimento corporal e ósseo de ratos. Rev Med Minas Gerais [internet]. out-dez 2004, [citado 28 ene 2012]; 4 (4). Disponible en: [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)
30. Ferreira da Silva C et al. Melatonina: modulador de morte celular Rev Assoc Med Bras [internet]. 2010. [citado 28 ene 2012]; (6): 715-718. Disponible en: [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)
31. Fchs Luiz Portugal G et al. Ação da melatonina sobre a apoptose e fator de crescimento endotelial vascular no córtex da adrenal de ratas pinealectomizadas. Rev Bras Ginecol Obstet. [internet]. 2010. agos [citado 25 ene 2012]; 32 (8). Disponible en: [file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20\(p%C3%A1gina%201\).htm](file:///G:/LILACS%20-%20Resultado%20de%20la%20b%C3%BAqueda%20(p%C3%A1gina%201).htm)

Comparación de dos nuevas técnicas de sedimentación y métodos convencionales para la recuperación de parásitos intestinales

Palabras clave: Técnicas de sedimentación, métodos coproparasitológicos, parásitos intestinales, etiología parasitaria, métodos diagnósticos, diagnóstico etiológico.

Key words: Sedimentation techniques, parasitological methods, intestinal parasites, parasitic etiology, diagnostics methods, etiologic diagnosis.

Recibido: 27/05/2012
Aceptado: 26/07/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

José Manuel Aquino Mariano,* Gie Bele Vargas Sánchez,* Briceida López Martínez,** Enrique Neri Spinola,*** Rosamaría Bernal Redondo*

* Laboratorio de Parasitología, Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez» (HIMFG). México, D.F.

** Jefatura del Laboratorio Clínico, HIMFG. México D.F.

*** Mederik, Medical Appliances.

Correspondencia:

Dra. Rosamaría Bernal Redondo
Hospital Infantil de México «Federico Gómez».
Laboratorio Clínico
Dr. Márquez 162, Col. Doctores, 06720
México D.F.
Tel. 52289917 ext. 2377.
E-mail: bernalhim@yahoo.com.mx

233

Resumen

En México las parasitosis intestinales tienen una amplia distribución, están colocadas dentro de las primeras 20 causas de enfermedad; en clínicas y hospitales se tienen implementadas diversas técnicas coproparasitológicas (CPS) para su diagnóstico. El propósito de este estudio fue comparar la capacidad de recuperación de formas parasitarias entre cuatro técnicas CPS: el examen directo, la técnica de concentración por flotación Ferreira y nuevas técnicas de sedimentación Spin-CON® y Macro-CON®. Se recolectaron un total de 100 muestras de heces, de 87 pacientes con edad de uno a 19 años, 39 (45%) mujeres y 48 (55%) hombres. Se detectaron 70 (70%) muestras positivas para parásitos patógenos, tres (3%) con parásitos comensales y 27 (27%) negativas. El índice kappa entre el examen directo y las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® fue 0.44 y 0.42 (concordancia moderada). En Ferreira con Spin-CON® y Macro-CON®, 0.77 y 0.80 (concordancia buena). Entre Spin-CON® y Macro-CON®, concordancia muy buena (0.95). Las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® con sensibilidad de 94 y 97% frente al examen directo y Ferreira. Entre Spin-CON® y Macro-CON®,

Abstract

Intestinal parasites are widespread in Mexico, they are positioned in the first twenty motives of diseases. In clinics and hospitals there are many techniques for parasitological diagnosis. The aim of this study was to compare the capacity to recover the parasites among four parasitological techniques: direct smear, concentration procedures by flotation (Ferreira) and two new sedimentation methods Spin-CON® and Macro-CON®. A total of 100 fecal samples were analyzed from 87 patients, whose age was from one to nineteen years old. Thirty-nine (45%) females and forty-eight (55%) males. Seventy percentage were detected with pathogens parasites, 3% non-pathogens and 27% negative. Kappa index between direct smear and Spin-CON® and Macro-CON® was 0.44 and 0.42 (moderate concordance). Among Ferreira, Spin-CON® and Macro-CON® was 0.77 and 0.80 (well concordance). Between Spin-CON® and Macro-CON® a high concordance (0.95). Spin-CON® and Macro-CON® techniques had 94% sensitivity and 97% specificity over direct smear and flotation. To compare Spin-CON® and Macro-CON® the sensitivity and specificity were 97% and 100% respectively. The Spin-CON®

la sensibilidad fue de 97% y la especificidad de 100%. Las técnicas Spin-CON® y Macro-CON® tienen una mayor eficacia de recuperación que las técnicas convencionales, el examen directo y la técnica de flotación.

Introducción

Las parasitosis intestinales son un conjunto de padecimientos causados por protozoarios y helmintos del tubo digestivo, considerados un problema de salud pública. Alrededor de 3,500 millones de habitantes en el mundo están parasitados, entre ellos 450 millones padecen alguna enfermedad parasitaria intestinal, la mayor proporción corresponde a los niños.¹

En México las parasitosis intestinales se encuentran distribuidas en todo el país y están colocadas dentro de las primeras 20 causas de enfermedad; con tasas de 1,000 a 1,500 por 100,000 habitantes. Siguen siendo causa importante de enfermedad a pesar del programa de administración de anti-parasitarios implementado a partir de 1995; las estadísticas describen que 49% de los niños y 53% de la población general se encuentran parasitados, según datos publicados en el Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud (SINAVE) de acuerdo al Código Internacional de Enfermedades (CIE).² Múltiples estudios muestran alta prevalencia de parasitosis intestinal en niños, sobre todo en edad preescolar y escolar, entre los cuales se ha registrado que 12% albergan dos o más parásitos. Esto representa un serio problema de salud pública en nuestro medio.^{3,4}

El diagnóstico etiológico se realiza, principalmente, con técnicas parasitológicas mediante la identificación morfométrica en heces; por lo tanto, es importante que el personal de los laboratorios clínicos maneje de forma habitual varios métodos coproparasitológicos (CPS) alternativos que apoyen el diagnóstico.⁵⁻⁷

Al ser tan frecuente el diagnóstico etiológico en clínicas y hospitales del país, en la mayoría de estos

and Macro-CON® methods had a better efficiency to recover parasites than conventional techniques such as direct smear and flotation concentration.

centros se tienen implementadas diversas técnicas CPS; dentro de ellas la técnica CPS directo en fresco es la más utilizada, que por su simpleza y bajo costo se ha convertido en una técnica universal; sin embargo, es poco sensible, 30 y 65%, dependiendo de la institución. Para aumentar la probabilidad de recuperación de parásitos en heces, se prefiere someter a una muestra fecal a una o más técnicas CPS de concentración, sobre todo cuando la carga parasitaria es baja.⁵

Las técnicas CPS de concentración se dividen en dos grupos: las de flotación, que emplean soluciones densas ($\delta > 1.0$) de modo que las formas parasitarias, después de la centrifugación, floten en el sobrenadante y las de sedimentación, que por el contrario utilizan soluciones menos densas ($\delta < 1.0$) en donde las formas parasitarias deberán buscarse en el sedimento, luego de la centrifugación.^{5,8}

El propósito de este estudio fue comparar la mayor capacidad de recuperación de formas parasitarias entre cuatro técnicas CPS: el examen CPS directo,^{9,11,12} la técnica CPS de concentración por flotación cuantitativa Ferreira 1:10,^{9,11,12} y las técnicas de concentración por sedimentación de Spin-CON® y Macro-CON® (Mederik, Medical Appliances),¹⁰ en niños que se atienden en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG).

Material y métodos

Muestras. Se analizaron 100 muestras de heces de 87 pacientes por cuatro técnicas coproparasitológicas (CPS): Examen directo, concentración por flotación Ferreira 1:10 y dos técnicas de concentración por sedimentación: Spin-CON® y Macro-CON®. El estudio se realizó en un periodo de marzo a julio del 2011. Los niños y niñas correspondieron a pacientes de la consulta externa de

pediatría, que acudían al HIMFG por varios motivos. Las técnicas de laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Parasitología del Laboratorio Clínico del mismo hospital.

Técnicas coproparasitoscópicas

CPS directo o en fresco: Técnica que permite localizar parásitos en una muestra de heces de 40 mg. Facilita la observación de formas móviles, como trofozoitos y larvas; prueba rápida, fácil y de bajo costo, pero con la desventaja de ser poco representativa del total de heces eliminadas por un individuo. *Técnica:* Colocar en cada extremo del portaobjeto una gota de solución salina y otra de lugol. Tomar con el aplicador de madera un poco de muestra (20 mg). Mezclar la muestra con la solución salina. Repetir el mismo procedimiento (otros 20 mg) con la gota de lugol. Colocar un cubreobjeto en cada preparación. Observar al microscopio (10X y 40X).^{9,11,12}

CPS de concentración por flotación cuantitativo Ferreira 1:10: Técnica que permite recuperar quistes y ooquistes de protozoarios, huevos y larvas de helmintos, mediante la utilización de solución de sulfato de zinc (ZnSO_4) con densidad de 1.19° Bé, que facilita la flotación de las estructuras parasitarias. Además, el empleo de un dispositivo (campana de Ferreira) hace posible la cuantificación de los huevos. *Técnica:* Homogeneizar 5 g de materia fecal con 45 mL de solución de formaldehído al 5%. Tamizar la muestra a través de una malla de alambre a un tubo de polietileno de 25 x 95 mm. Centrifugar a 2,000 rpm (600 x g) durante un minuto. Decantar el sobrenadante, resuspender el sedimento con 45 mL de agua de la llave, agitar y centrifugar. Repetir procedimiento hasta observar un sobrenadante claro. Agregar 10 mL de solución de sulfato de zinc (ZnSO_4) con densidad 1.19° Bé y resuspender el sedimento. Introducir la campana de Ferreira y llenar el tubo con sulfato de zinc hasta el borde de la rondana. Centrifugar a 2,000 rpm (600 x g) durante un minuto. Comprimir la banda

elástica de la campana y, sin dejar de presionar, retirarla del tubo. Invertir la campana y agregar una gota de lugol parasitológico. Mezclar el contenido de la banda elástica de la campana. Depositar la gota sobre el portaobjeto. Cubrir la preparación y observar al microscopio con objetivos 10X y 40X. Anotar el nombre completo del parásito y la fase que se observa. Reportar presencia o ausencia de protozoarios. Contar el número total de huevos en la preparación, multiplicar por cinco y reportar el número de huevos por gramo de heces (hgh).⁹

CPS de sedimentación Spin-CON® y Macro-CON®. Recolección de la muestra. Abrir el tubo que contiene el líquido conservador. Con la cuchara para depósito contenida en la tapa, poner pequeñas cucharaditas de heces en el tubo hasta que el contenido alcance la línea roja. Remover con la cuchara, cerrar y agitar vigorosamente a fin de que esté bien mezclado. Antes de procesar, dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente, de esta manera se obtiene una muestra de heces preservada (Inserto Para Pak Macro-CON®).¹⁰

Spin-CON®. Técnica coproparasitoscópica (CPS) que permite la recolección de quistes, ooquistes, huevos y larvas del sedimento de una muestra de heces preservada. *Técnica:* Añadir de ocho a diez gotas de surfactante por vial (Para-Pak®), cerrar y agitar vigorosamente durante 60 segundos, para obtener una muestra de heces preservada. Asegurar que el dispositivo Spin-CON® esté armado correctamente, con la mitad superior e inferior del tubo bien conectadas una a la otra, y que la rejilla primaria del embudo esté bien asentada en su lugar, en la mitad superior del tubo. Filtrar 3 mL de materia fecal preservada. Desechar la rejilla preliminar en un recipiente adecuado. Añadir 2 mL de solución salina fisiológica a la mitad superior del dispositivo Spin-CON®. Colocar el tapón en la parte superior y mezclar bien. Centrifugar durante diez minutos a 500 x g. Desechar la mitad superior del dispositivo Spin-CON®. Decantar el sobrenadante de la mitad inferior. Resuspender el sedimento en un volumen apropiado de formol al

5%. Hacer una preparación húmeda en solución salina y lugol. Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.¹⁰

Macro-CON®. Técnica coproparasitológica (CPS) que permite la recolección de quistes, ooquistes, huevos y larvas del sedimento de una muestra de heces preservada. *Técnica:* Añadir de ocho a diez gotas del surfactante por vial de Para-Pak®, cerrar el vial y agitar vigorosamente durante 60 segundos. Retirar el tapón e insertar el extremo abierto de la unidad de filtración Macro-CON® en el vial de la muestra, ejerciendo una leve presión hacia abajo, hasta que ésta quede firmemente asentada. Invertir el sistema Macro-CON® y permitir que se filtre la muestra a través de la malla, golpear con firmeza dos o tres veces para hacer que el líquido ingrese al tubo. Desenroscar y desechar la unidad de filtración del tubo cónico. Añadir formol al 5% hasta que el nivel de la muestra filtrada alcance la línea punteada. Añadir 5 mL de acetato de etilo, cerrar el tubo cónico con el tapón de rosca. Agitar vigorosamente durante 60 segundos, aflojar el tapón para liberar la presión y volver a ajustar. Centrifugar durante diez minutos a 500 x g. Decantar el sobrenadante y la capa de detritos. Resuspender el sedimento en un volumen apropiado de formol al 5%. La muestra que se va a examinar debe ser recogida de la mitad superior del material resuspendido. Hacer una preparación húmeda en solución salina y lugol. Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.¹⁰

Pruebas estadísticas. Razones y proporciones. Tablas de contingencia 2 x 2. Índice Kappa, concordancia entre dos variables dicotómicas. $Kappa = \frac{\text{proporción de concordancia observada (Po)} - \text{proporción de concordancia esperada (Pe)}}{1 - \text{proporción de concordancia esperada (Pe)}}$. $Po = \frac{a + d}{N}$, $Pe = \frac{(rt) + (su)}{N^2}$

Sin concordancia < 1

Concordancia insignificante 0 – 0.2

Concordancia baja 0.2 – 0.4

Concordancia moderada 0.4 – 0.6

Concordancia buena 0.6 – 0.8

Concordancia muy buena 0.8 – 1.0

Concordancia perfecta 1.0

Prueba no paramétrica χ^2 . Valor de $p < 0.05$ considerado como el nivel crítico de significancia

Resultados

El total de la población estudiada fue de 100 muestras de heces, correspondientes a 87 pacientes, en un rango de edad de uno a 19 años. Veinte niños (23%) de uno a cuatro años, 18 (20.7%) de cinco a siete años, 24 (27.6%) de ocho a 12 años y 25 (28.7%) mayores de 12 años. Con un total de 39 (45%) mujeres y 48 (55%) hombres.

De las 100 muestras de heces procesadas se detectaron 70 (70%) positivas para parásitos patógenos, tres (3%) con parásitos comensales y 27 (27%) totalmente negativas. Al analizar la efectividad para recobrar parásitos de acuerdo con la técnica CPS empleada; la técnica Macro-CON® mostró el mayor rendimiento (70%), en comparación con Spin-CON (69%), Ferreira (68%) y examen directo (47%). No hubo diferencia significativa entre los tres primeros. Del total de muestras positivas a parásitos patógenos, 67% fue detectado mediante un examen directo, 97% por la técnica de concentración de flotación de Ferreira, 98% por la técnica de Spin-CON® y el 100% por la técnica de Macro-CON® (*cuadro I*).

Al considerar la capacidad de recuperación de las diferentes técnicas, independientemente de que se trate de parásitos patógenos o parásitos comensales, observamos que para el examen directo se recobraron 50 formas parasitarias (68%), del total de 73 que fue la mayor obtención. Cuando se empleó la técnica de flotación Ferreira, se lograron 71 (97%), para Spin-CON® 72 (99%), con Macro-CON 100%. Con diferencia significativa sólo con el examen directo (*cuadro II*).

La recuperación de las formas de cuerpo central o vacuoladas de *B. hominis* fue mayor con la técnica de flotación de Ferreira (85%), seguido por

Cuadro I. Positivos a formas parasitarias por cuatro técnicas.

	Examen directo (N = 70)		Ferreira 1:10 (N = 70)		Spin-CON® (N = 70)		Macro-CON® (N = 70)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Positivos patógenos	47	67	68	97	69	98	70	100
Negativos y comensales	53	76	32	46	31	44	30	43

Cuadro II. Positivos a organismos patógenos y/o comensales.

	Examen Directo	Ferreira 1:10	Spin-CON®	Macro-CON®
Positivos patógenos	47	68	69	70
Positivos comensales	3	3	3	3
	50/73 (68%)	71/73 (97%)	72/73 (99%)	73/73 (100%)
Negativos	50	29	28	27

Cuadro III. Frecuencias de parásitos por resultado positivo en cada técnica.

Parásito	Técnica CPS							
	Examen directo (N = 47)		Ferreira 1:10 (N = 68)		Spin-CON® (N = 69)		Macro-CON® (N = 70)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Blastocystis hominis</i>	33	70	58	85	53	77	55	78
<i>Giardia lamblia</i>	8	17	11	16	11	16	11	16
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	5	11	8	11	5	7	6	8.5
Helmintos	5	11	9	11	8	11	9	13
<i>Entamoeba coli</i>	9	19	20	29	16	23	16	23
<i>Endolimax nana</i>	9	19	22	32	19	27	19	27
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1	2	1	1	1	1	1	1

la técnica de Macro-CON® (78%) y Spin-CON® (77%); la de menor capacidad correspondió al examen directo (70%). Para el caso de *G. lamblia*, la mayor observación fue en el examen directo (17%) y valores de 16% para las tres técnicas de concentración. La obtención de quistes de *E. histolytica/E. dispar* fue similar por examen directo y técnica de Ferreira (11%), con 7% para Spin-CON® y 8.5% para Macro-CON®. Los huevos de helmintos fueron recobrados con el mismo porcentaje (11%) mediante examen directo, Ferreira y Spin-CON®, pero fue más alta (13%) con Macro-CON® (cuadro III).

Al considerar si la parasitosis fue única o múltiple, en el examen directo 70% correspondió a única y 30% a múltiple; en Ferreira 51% fueron única y 49% para múltiple; en Spin-CON® 60% única y 40% múltiple y en Macro-CON® 59% única y 41% múltiple (cuadro IV).

Al reportar los resultados de las muestras de heces con parasitosis múltiple, el examen directo concentró mayor número de casos con dos parásitos, para las observaciones con tres parásitos, Ferreira fue el que obtuvo mayor recuperación. La obtención fue igual para Ferreira y Spin-CON® en ocasión de cuatro parásitos. En cuanto a los

Cuadro IV. Parasitosis única y múltiple.

	Examen directo (N = 50)		Ferreira 1:10 (N = 71)		Spin-CON® (N = 72)		Macro-CON® (N = 73)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Única	35	70	36	51	43	60	43	59
Múltiple	15	30	35	49	29	40	30	41

Cuadro V. Distribución de parasitosis múltiple.

	Examen directo	Ferreira 1:10	Spin-CON®	Macro-CON®
Única	35	36	43	43
2 parásitos	12	16	18	17
3 parásitos	1	16	9	12
4 parásitos	1	2	2	1
5 parásitos	1	1	0	0
Múltiple	15	35	29	30
Total	50	71	72	73

casos con cinco parásitos, sólo el examen directo y Ferreira recobraron uno (*cuadro V*).

El índice kappa para los resultados entre el examen directo y las técnicas de Spin-CON® y Macro-COM® fue 0.44 y 0.42, respectivamente, con clasificación de concordancia moderada. Entre Ferreira con Spin-CON® y Macro-COM®, el índice kappa fue mayor, 0.77 y 0.80, clasificado como concordancia buena. Al comparar el índice kappa entre Spin-CON® y Macro-COM®, el resultado de concordancia fue muy bueno (0.95). Las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® tuvieron una sensibilidad de 94 a 97% frente al examen directo y la técnica de concentración por flotación de Ferreira. La especificidad con examen directo fue 50% y con Ferreira 82%. Al comparar las técnicas de sedimentación de Spin-CON® y Macro-CON®, la sensibilidad fue de 97% y la sensibilidad de 100% (*cuadro VI*).

Al analizar el índice kappa para la concordancia de técnicas por especie de parásito, para el caso de *Blastocystis hominis*, el valor de Spin-CON® y Macro-CON® frente al examen directo fue de concordancia moderada (0.55 y 0.54), con

concordancia muy buena (0.92 y 0.93) frente a la técnica de Ferreira; de igual manera, cuando se compararon el Spin-CON® y el Macro-CON® (0.94). Cuando se trata de *Giardia lamblia*, la prueba de Spin-CON® y el Macro-CON® frente al examen directo, fue de concordancia muy buena (0.92 y 0.93) y una concordancia perfecta (1.0) frente a la técnica de Ferreira. Al revisar los casos de *Entamoeba histolytica*/E. *dispar*, las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® frente al examen directo mostraron una muy buena concordancia (1.0 y 0.90). Concordancia buena con la técnica de Ferreira (0.75 y 0.84). Entre las técnicas Spin-CON® y Macro-CON® muy buena concordancia (0.9). Para los helmintos las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® contra el examen directo dio una concordancia buena (0.75 y 0.69), contra Ferreira muy buena concordancia (0.93 y 1.0) igual entre las los técnicas de sedimentación (0.93) (*cuadro VII*).

Discusión

A lo largo del tiempo se han desarrollado diversas técnicas para el diagnóstico de los parásitos intestinales. Éstas han mejorado conforme el aumento de conocimientos sobre los ciclos de vida y la patogenia; además, la aparición de nuevas tecnologías han permitido la implementación de métodos con mayor sensibilidad y especificidad. Algunas técnicas abarcan la detección de varios parásitos; otras son específicas para un parásito o una fase parasitaria en particular. Sin embargo, no existe una técnica con eficacia de recuperación de 100%, que además sea de bajo costo y de fácil realización. Por tal razón, el diseño y experimentación de nuevas técnicas

Cuadro VI. Concordancia (Kappa) entre técnicas.

Prueba referencia	Prueba diagnóstica	Índice Kappa	Sensibilidad	Especificidad
Examen Directo	Spin-CON	0.44	0.94	0.50
	Macro-CON	0.42	0.94	0.48
Ferreira 1:10	Spin-CON	0.77	0.94	0.82
	Macro-CON	0.80	0.95	0.82
Spin-CON	Macro-CON	0.95	0.97	1.00

Spin-CON y Macro-CON son marcas registradas (Spin-CON®, Macro-CON®).

Cuadro VII. Concordancia (Kappa) entre parásito y técnica.

Parásito	Prueba referencia	Prueba diagnóstica	Índice Kappa*	Sensibilidad	Especificidad
<i>B. hominis</i>	Examen Directo	Spin-CON	0.55	0.93	0.71
		Macro-CON	0.54	0.93	0.70
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.92	0.98	0.93
		Macro-CON	0.93	1.00	0.94
<i>G. lamblia</i>	Examen Directo	Spin-CON	0.94	0.96	0.97
		Macro-CON	0.83	1.00	0.97
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.83	1.00	0.97
		Macro-CON	1.00	1.00	1.00
<i>E. histolytica/dispar</i>	Examen Directo	Spin-CON	1.00	1.00	1.00
		Macro-CON	1.00	1.00	1.00
	Ferreira 1:10	Spin-CON	1.00	1.00	1.00
		Macro-CON	1.00	1.00	1.00
Helmintos	Examen Directo	Spin-CON	1.00	1.00	1.00
		Macro-CON	0.90	0.83	1.00
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.75	1.00	0.96
		Macro-CON	0.69	1.00	0.95
	Examen Directo	Spin-CON	0.93	0.88	1.00
		Macro-CON	1.00	1.00	1.00
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.93	0.88	1.00
		Macro-CON	0.93	0.89	1.00

Spin-CON y Macro-CON son marcas registradas (Spin-CON®, Macro-CON®).

no ha llegado a su término y existe una búsqueda continua de nuevas metodologías que sean más eficaces, rápidas, sencillas y económicas.

El examen directo es fácil de realizar y económico, y en muchos laboratorios es lo único que se utiliza para el diagnóstico de las parasitosis intestinales. Existen estudios que muestran que ha sido más eficaz que algunas técnicas de concentración; sin embargo, posee una baja sensibilidad.¹³⁻¹⁵

La mayoría de los autores consideran que para obtener mayor recuperación de las formas para-

sitarias intestinales es necesario el empleo de una técnica de concentración. Entre éstas, las más utilizadas en los laboratorios de diagnóstico son dos grupos: concentración por sedimentación y concentración por flotación, con o sin el empleo de centrifugación. En este estudio se compararon un examen directo, una técnica de concentración por flotación y dos técnicas nuevas de concentración por sedimentación. Los resultados muestran una eficacia de 47% para el examen directo y mayor recuperación en las técnicas de sedimentación

(69 y 70%), contra la técnica de flotación (68%), con diferencia significativa entre el examen directo y las de concentración y sin diferencia significativa entre las tres técnicas de concentración.

El objetivo de este estudio fue comparar la capacidad de recuperación de formas parasitarias entre cuatro técnicas CPS, independientemente si se trataba de organismos patógenos y/o comensales del tubo digestivo. El examen directo recuperó más (68%) de mezcla de patógenos y no patógenos, 97% recuperado por Ferreira, 99% para Spin-CON® y 100% para Macro-CON®.

Una gran variedad de técnicas de sedimentación han sido utilizados para la recuperación de parásitos en heces; los procesos incluyen: ley de la gravedad, centrifugación y método químico. En los procesos donde se considera la ley de la gravedad tienen la ventaja de que el material biológico rescatado se conserva viable y la desventaja de obtener una preparación con muchos detritus fecales; dentro de este grupo, hasta la fecha, la más utilizada es la técnica espontánea de sedimentación.¹⁶ Cuando se emplean las técnicas de sedimentación por centrifugación se tiene un buen rescate de huevos operculados de trematodos, con la desventaja de obtener una preparación sucia con muchos desechos orgánicos. Por último, están las técnicas de sedimentación mediante un proceso químico. A este grupo pertenece la técnica de Ritchie que emplea formol y éter; resulta muy buena para el diagnóstico de quistes y ooquistes de protozoos, huevos y larvas de helmintos con poca distorsión sobre los huevos de helmintos, sólo daña la cubierta de *Hymenolepis nana*, con la desventaja de un sedimento sucio. El riesgo de explosión con el empleo de éter fue motivo para sustituir el éter por acetato de etilo,¹⁷ con la ventaja de poca distorsión en las estructuras, sedimento más limpio y sin riesgo de explosión.^{5,8,14,18-20}

Las técnicas de concentración por flotación tienen su origen en el empleo de soluciones saturadas de cloruro de sodio, glucosa, sacarosa y más recientemente sulfato de zinc, soluciones que presentan una

densidad (δ) mayor de uno, entre 1.10 a 1.20 Bé, que facilitan la flotación de las estructuras parasitarias y pueden ser recogidas en el sobrenadante del tubo. Dentro de ellas, las más utilizadas son: la técnica de Willis (salmuera), la técnica de Sheather (sacarosa), la de Faust y Ferreira (sulfato de zinc). En la actualidad la técnica de Faust es recomendada por la CLSI para el diagnóstico en los laboratorios clínicos.^{3,9,18}

Existen reportes que recomiendan realizar al menos una técnica de sedimentación y una de flotación para maximizar la efectividad del diagnóstico coproparasitológico.⁵ Sin embargo, existen pocos trabajos a cerca del uso de la técnica de Ferreira, la cual presenta una capacidad de recuperación excelente, que emplea materiales reutilizables, haciéndola económica, además de permitir el conteo de huevos de helmintos. Esta técnica puede ser una buena opción si se desea implementar en un laboratorio clínico de parasitología, con la desventaja de utilizar la campana de Ferreira, la cual requiere de una manufactura especial.^{15,21}

Las dos técnicas nuevas de sedimentación, presentadas en este estudio, Spin-CON® y Macro-CON®, corresponden a las técnicas de concentración por sedimentación mediante un proceso químico; son técnicas sencillas y de fácil realización. Para Spin-CON®, sin embargo, al momento de observar al microscopio, las muestras se ven sucias, lo que impide una buena lectura. Esto tal vez sea debido al hecho de que no se realizan lavados. Contrario al caso anterior, al usar Macro-CON®, las muestras se ven limpias, incluso más que al utilizar Ferreira en la que se realizan varios lavados; esto tal vez debido al uso del acetato de etilo que actúa como saponificante, ayuda a eliminar las grasas y detritos, que facilita la observación de formas parasitarias en el fondo de la suspensión. En ambas técnicas hay una buena capacidad de concentración al momento de la observación. Un aspecto importante es el vial de recolección de la muestra del que parten ambas técnicas, pero difieren en la cantidad de muestra del vial que utilizan; Spin-CON® emplea sólo tres mililitros (3 mL)

mientras que Macro-CON® usa todo el vial. A pesar de estas diferencias en la cantidad de muestra, los resultados dieron un comportamiento similar en la recuperación de los parásitos. Este vial que contiene un fijador/conservador podría empezar el proceso de concentración antes de la centrifugación.¹⁰ Estas técnicas son fáciles de realizar, pero el hecho de que empleen material desechable podría elevar los costos si se analiza una gran cantidad de muestras diariamente.

El análisis de resultados por parásito señala a *Blastocystis hominis* como el más frecuente, seguido de *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*/E. dispar y pocos casos de helmintos, esto probablemente porque el estudio se realizó en un hospital de atención de tercer nivel con un gran número de pacientes inmunocomprometidos, en donde las protozoosis son mucho más frecuentes que las helmintosis (cuadro II). Para realizar la comparación de resultados de mayor recuperación de acuerdo con la técnica empleada, se consideran también los parásitos comensales del tubo digestivo, *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* y *Iodamoeba butschlii*. En el caso de *Blastocystis hominis* algunos autores^{5,13,14} han encontrado que es mejor el examen directo para su detección, ya que con el uso de una técnica de concentración este parásito pudiera deformarse o destruirse con la centrifugación. Los resultados obtenidos en este estudio son contrarios, ya que las tres técnicas de concentración utilizadas fueron superiores al examen directo, con diferencia significativa y un porcentaje de recuperación superior de la técnica de flotación que las de sedimentación (cuadro II). En la recuperación de quistes de *Giardia lamblia* no existió diferencia significativa entre las tres técnicas de concentración, sólo diferencia con el examen directo. Para los comensales *E. coli*, *E. nana* y *I. butschlii*, la recuperación también fue mayor en las técnicas de concentración y entre ellas la mayor fue la de flotación. Este hecho podría explicarse por la utilización del vial de recolección de la muestra.²²⁻²⁴ En este estudio las helmintosis fueron escasas, los resultados mostraron la más

alta recuperación en la técnica de flotación y en el Macro-CON®, sin diferencia significativa con la técnica de Spin-CON®.

En conclusión, los resultados muestran que el empleo de las técnicas de sedimentación de Spin-CON® y Macro-CON® tienen una mayor eficacia comparada con técnicas convencionales de uso frecuente en los laboratorios como el examen directo y la técnica de flotación; a pesar de no tener una diferencia significativa con la técnica de flotación de Ferreira. Asimismo, se destaca que permanece vigente la construcción de nuevas técnicas CPS que permitan la recuperación de formas parasitarias y que su diseño sea cada vez más práctico y de menor costo, para poder implementarse en todas los laboratorios de diagnóstico de las diferentes regiones del país, esto con el propósito de ofrecer un servicio de alta calidad. Los resultados del trabajo nos autorizan a sugerir que, para la mejor recuperación de estructuras parasitarias, se lleven a cabo las técnicas CPS de concentración por sedimentación o flotación con buena sensibilidad para protozoarios y/o helmintos. Que la técnica de examen directo es recomendable para la identificación de las fases móviles (trofozoítos y larvas) y que además de manera habitual debe agregarse una tinción de Kinyoun para la identificación de coccidias intestinales; por este medio se cubre la más amplia probabilidad de recuperar e identificar todos los parásitos intestinales.

241

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a los compañeros del Laboratorio de Parasitología del Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México «Federico Gómez», por su colaboración en la realización de este trabajo

Referencias

1. Ximénez-García C. Las parasitosis intestinales en México. Cuadernos Funsalud (Fundación Mexicana para la Salud, A.C.) 2002; No. 36.

2. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Sistema Único Información No. 20, Vol. 20, Semana 20, 2003.
3. Quihui-Cota L, Valencia ME, Crompton DWT, Phillips S, Hagan P, Díaz-Camacho SP et al. Prevalence and intensity of intestinal parasitic infections in relation to nutritional status in Mexican schoolchildren. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004; 98: 653-659.
4. Ávila-Rodríguez EH, Ávila-Rodríguez A, Araujo-Contreras JM, Villareal-Martínez A, Douglas T. Factores asociados a parasitosis intestinal en niños de la consulta ambulatoria de un hospital asistencial. *Rev Mex Pediatr* 2007; 74 (1): 5-8.
5. Navone GT, Gamboa MI, Kozubsky LE, Costas ME, Cardozo MS et al. Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico. *Parasitol Latinoam FLAP* 2005; 60: 178-181.
6. Sánchez-Rivera GL, Díaz-Ruiz MG, Rojas-Tinoco ME. Estudio comparativo entre el método coproparasitoscópico de concentración por flotación de Faust y el método coproparasitoscópico de concentración por sedimentación con Brij-35. *Bioquímica* 2006; 31 (supl A): 90.
7. Parija SC, Srinivasa H. The neglect of stool microscopy for intestinal parasites and possible solutions. *Trop Med Inter Health* 1999; 4 (7): 522-524.
8. Truant A, Elliott SH, Kelly MT, Smith JH. Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, formalin-ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiology* 1981; 13 (5): 882-884.
9. Salazar SPM. Diagnóstico morfológico de las parasitosis. 3a ed. México: Méndez Editores; 2011.
10. <http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/Files/2.11%20Para-Pak/EcoFix/Package-Insert-ECOFIX.pdf>. <http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/Files/2.11%20Para-Pak/Spin%20Con%20200/Package-Insert-Para-Pak-SpinCon200.pdf>. <http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/Files/2.11%20Para-Pak/MacroCON/Package-Insert-MacroCON.pdf>
11. García LS, Bruckner DA. *Diagnostic Medical Parasitology*. 4th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2003.
12. García LS, Bullock-Iacullo SL et al. Procedures for the recovery and identification of parasites from the intestinal tract; approved guideline. Pennsylvania, USA: Clinical Standard Laboratory Institute (CSLI); 2005.
13. Devera R, Blanco Y, Requena I, Velásquez V. Diagnóstico de *Blastocystis hominis*: Bajo rendimiento de los métodos de concentración de formol-éter y sedimentación espontánea. *Rev Biomed* 2006; 17: 231-233.
14. Mendoza D, Núñez FA, Escobedo A, Pelayo L, Fernández M, Torres D, Cordoví RA. Utilidad de 2 métodos coproparasitológicos y su empleo en un ensayo terapéutico anti-giardiasis. *Rev Cub Med Trop* 2003; 55 (3): 174-178.
15. Bernal-Redondo R, Hernández-Sánchez G, Ramírez-Hernández EC, Gámez-Aranda A, Martínez-Méndez L. Protozoos emergentes. Comparación de tres métodos de identificación. *Rev Mex Patol Clin* 1998; 45 (4): 193-199.
16. Tello R, Canales M. Técnicas de diagnóstico de enfermedades causadas por enteroparásitos. *Diagnóstico* 2000; 39: 197-198.
17. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, Spruill CL. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. *J Microbiology* 1979; 10 (6): 852-853.
18. Rodríguez-Ulloa C, Rivera-Jacinto M. ELISA y técnica de sedimentación espontánea para el diagnóstico de infección por *Giardia lamblia* en muestras fecales de niños de Perú. *Sal Pub Mex* 2011; 53 (6): 516-519.
19. Terashima A, Marcos L, Maco V, Canales M, Samalvides F, Tello R. Técnica de sedimentación en tubo de alta sensibilidad para el diagnóstico de parásitos intestinales. *Rev Gastroenterol* 2009; 29 (4): 305-310.
20. Pajuelo-Camacho G, Luján-Roca D, Paredes-Pérez B, Tello-Casanova R. Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parasitosis intestinales. *Rev Biomed* 2006; 17: 96-101.
21. Bernal-Redondo R, Ramírez-Hernández E, Suárez-Torres, B, Hernández-Elizalde MA, Rodríguez-Monroy MC, Ruiz-Cervantes D, Vargas-Sánchez GB. *Blastocystis hominis*: Identificación etiológica en microscopia de luz. *Rev Noticonaquic* 2011; 55: 44-48.
22. Nuñez F, González O, Bravo J, Escobedo A, González I. Parasitosis intestinales en niños ingresados en el Hospital Universitario Pediátrico del Cerro, La Habana, Cuba. *Rev Med Trop* 2003; 55 (1): 19-26.
23. Marcos L, Maco V, Terashima A, Samalvides F, Miranda E, Gotuzzo E. Parasitosis intestinal en poblaciones urbana y rural en Sandía, Departamento de Puno, Perú. *Parasitol Latinoam FLAP* 2003; 58: 35-40.
24. Velarde del Río LT, Mendoza-Romo MA. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en menores de 12 años de una población mexicana urbana. *Rev Cub Pediatr* 2006; 78 (4): 33-39.

Determinación de los intervalos de referencia de biometría hemática en población mexicana

Palabras clave: Intervalo de referencia, biometría hemática, hematología, México.

Key words: Reference intervals, blood count, hematology, Mexico.

Recibido: 10/04/2012
Aceptado: 19/04/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Pablo Díaz Piedra,* Gabriela Olay Fuentes,* Ricardo Hernández Gómez,* R Daniel Cervantes-Villagrana,** José Miguel Presno-Bernal,** Luz Elena Alcántara Gómez*

* Laboratorio Carpermor.

** Grupo Diagnóstico Médico Proa.

Correspondencia:

QFB. Pablo Díaz Piedra

Laboratorio Carpermor

Alfonso Herrera núm. 75, Col. San Rafael, 06470 México D.F.

Tel: 5140-7600 Ext. 52007, 52008 E-mail: pablo.diaz@carpermor.com.mx

Resumen

La biometría hemática es uno de los exámenes utilizados para la valoración diagnóstica hematológica de un paciente. Los valores hematológicos de sujetos sanos pueden variar según las características individuales y el entorno de una población. Por lo tanto, los intervalos de referencia en hematología varían de acuerdo con la edad, sexo, altitud, etcétera. El objetivo de este estudio fue determinar los intervalos de referencia de la biometría hemática completa en la población mexicana. Se analizaron 654,047 resultados de individuos de ambos géneros. Se utilizó el método no-paramétrico de Tukey para la detección de valores extremos y se determinaron los intervalos de referencia a través del método no-paramétrico recomendado por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) en su guía C28-A3. En los resultados obtenidos se observó la variabilidad de los intervalos calculados con respecto a los intervalos de referencia sugeridos por el fabricante de los siguientes parámetros: Leucocitos, eritrocitos, hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), plaquetas, neutrófilos y linfocitos, tanto en porcentuales como en valores absolutos. El desplazamiento y los cambios de amplitud en los intervalos calculados, se presentó entre géneros y los grupos etarios establecidos; por lo tanto, es importante que cada laboratorio clínico determine los intervalos de referencia en la población analizada y bajo sus procedimientos analíticos.

Abstract

The blood count is one test used for hematology diagnostic assessment of a patient. Hematological values of healthy patients may vary according to individual characteristics and environment of a population. Therefore, the hematology reference intervals vary according to age, sex, height, etc. The aim of this study was to determine reference intervals of blood count in the Mexican population. Results of 654,047 individuals of both genders were analyzed. We used the nonparametric method of Tukey for the detection of extreme values and reference intervals determined by the method nonparametric recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guide in C28-A3. The results obtained showed the variability of the intervals calculated with respect to the reference intervals suggested by the manufacturer of the following parameters: leukocytes, erythrocytes, hemoglobin, MCV, platelets, neutrophils and lymphocytes, in percentage and absolute values. The displacement and amplitude changes in the estimated range, was between genders and among age groups established, so it is important that each clinical laboratory reference intervals determined in the study population and in their analytical procedures.

Introducción

La biometría hemática (BH) o hemograma es un estudio sanguíneo el cual se divide en tres bloques con base en los tipos de células sanguíneas analizadas: los leucocitos, los eritrocitos y las plaquetas. La interpretación correcta del hemograma orienta al médico para el diagnóstico oportuno de infecciones, anemias, leucemias, parasitosis, policitemias, enfermedades del sistema inmunitario, patologías de la hemostasia, entre otras.^{1,2} El estudio de la biometría hemática completa incluye el análisis morfológico (tamaño, forma y volumen celular) y cuantitativo de las células sanguíneas mencionadas.²

El intervalo de referencia para muchas pruebas de laboratorio se define por los valores umbral entre los cuales caen los resultados de un porcentaje determinado (generalmente 95%) de individuos aparentemente sanos.³ Los intervalos de referencia de estas pruebas de laboratorio tradicionalmente se toman de los insertos que contiene el reactivo con el que se procesa la prueba; en la mayoría de los casos estos valores corresponden a una población distinta a la que se aplican en laboratorios mexicanos, que contienen una mezcla étnica diferente a la que aporta el inserto. En hematología, así como en otras áreas clínicas, es importante establecer los límites de referencia en la población que se analizará de manera rutinaria.⁴ La variabilidad en los valores de referencia depende de muchos factores como: el género, la edad del paciente, las características fenotípicas y genotípicas de la población, la dieta, la ubicación geográfica (como la altitud) y el método utilizado, entre otros.⁵⁻⁷ El objetivo de este trabajo fue determinar los límites de referencia para la biometría hemática en la población mexicana que acude a realizar sus estudios clínicos en el Laboratorio Carpermor, SA de CV.

Material y métodos

Se analizaron 654,047 resultados hematológicos de individuos de uno u otro géneros. Las muestras

sanguíneas fueron obtenidas y procesadas durante el mes de Abril de 2010 en el Laboratorio Carpermor, SA de CV. De acuerdo con la Ley General de Salud, el estudio no representa un riesgo físico y de confidencialidad, por lo tanto, no requirió la firma de consentimiento de los pacientes. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Laboratorio Carpermor.

Cada muestra fue analizada por citometría de flujo con citoquímica en el instrumento ADVIA® 120 (*Hematology System, SIEMENS*). Los datos obtenidos se clasificaron en los 20 parámetros evaluados: Leucocitos (LEU), eritrocitos (ERI), hemoglobina (HMG), hematocrito (HCT), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC), amplitud de la distribución del volumen de eritrocitos (ADE), las plaquetas (PLT), el porcentaje de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y células grandes sin teñir (*large unstained cells, LUC*); finalmente, la cuenta absoluta de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos. La partición de los intervalos de referencia se determinó de acuerdo al sistema de intervalos de referencia utilizado en el Laboratorio Carpermor.

Métodos estadísticos

I. Detección de valores extremos. La detección de valores extremos en cada uno de los subgrupos se realizó con el método no-paramétrico de Tukey. El método consistió en calcular los cuartiles inferior (Q_1 , percentil 25%) y superior (Q_3 , percentil 75%) del conjunto de datos, así como el rango intercuartil (RIC), obtenido de la sustracción, $Q_3 - Q_1$. Posteriormente, se calcularon los límites superior e inferior de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$\text{Límite inferior} = Q_1 - 1.5 \times \text{RIC}$$

$$\text{Límite superior} = Q_3 + 1.5 \times \text{RIC}$$

Los datos ubicados fuera de cualquiera de los límites se consideraron como valores extremos, y no se utilizaron para la determinación de los intervalos de referencia. Este procedimiento se repitió en cada conjunto de datos hasta anular todos los valores extremos.

2. Determinación de intervalos de referencia.

La determinación de los Intervalos de Referencia para cada subgrupo de datos se realizó haciendo uso del método no-paramétrico recomendado por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) en su guía C28-A3. El método consiste en ordenar el número de observaciones por magnitud en orden descendente. Posteriormente, determinaron los límites de referencia inferior (percentil 2.5%) y superior (percentil 97.5%) a través de las siguientes expresiones:

$$\text{Límite de referencia inferior } (r_1) = 0.025 \times (n + 1)$$

$$\text{Límite de referencia superior } (r_2) = 0.975 \times (n + 1)$$

Debido a que los valores obtenidos de r_1 y r_2 generalmente no son números enteros, los límites se determinaron por interpolación entre los datos correspondientes a los rangos en cada uno de los límites.

Resultados

Los resultados obtenidos del cálculo de intervalos de referencia para la concentración de leucocitos, eritrocitos y hemoglobina se muestran en el *cuadro I*. A partir de los intervalos de referencia calculados, se determinó que las concentraciones de leucocitos y eritrocitos son similares entre los géneros. Además, los intervalos de referencia calculados para los leucocitos y los eritrocitos se encontraron desplazados a la izquierda de los intervalos de comparación. El intervalo de referencia calculado para los eritrocitos en las mujeres fue ligeramente menor que el intervalo para los hombres (3.84-5.44 y 4.02-6.10 millones/ μ L, respectivamente), y am-

bos intervalos tuvieron un rango más amplio que los utilizados actualmente. El rango de concentración de hemoglobina en hombres fue mayor que la obtenida en mujeres con 10.06-18.50 y 11.14-16.30 g/dL, respectivamente. Estos intervalos estaban desplazados hacia la izquierda de los intervalos de comparación (*cuadro I*).

El *cuadro II* muestra los intervalos obtenidos para el hematocrito, VCM, HCM, CMHC, ADE y plaquetas. En el hematocrito, los valores calculados para el género femenino fueron similares en el límite inferior respecto al género masculino, con valores de 33.68 y 32.37%, respectivamente; y ambos intervalos coincidieron en el límite superior del hematocrito con un valor de 49.4%. Cuando se compararon con los intervalos de referencia actuales, en el género femenino se observa una menor amplitud del rango de comparación (37-47%) contra el calculado (33.68-49.40%).

Los intervalos calculados para el VCM de ambos géneros son prácticamente iguales, sólo difieren en el límite bajo por 0.55 unidades; pero los intervalos de referencia actuales presentaron un rango más pequeño que los calculados. Al igual que el VCM, los intervalos calculados de HCM son muy similares entre los géneros, difieren en 0.4 unidades para el límite bajo y 0.3 unidades en el límite alto. Estos rangos se desplazaron ~ 2 pg hacia la derecha en comparación con los rangos actuales de HCM (*cuadro II*).

En la CMHC se obtuvieron intervalos de referencia similares entre los géneros con diferencias en los límites inferior y superior con 0.6 y 0.4 g/dL, respectivamente. Comparados estos rangos con los actuales, se encuentran desplazados hacia la izquierda ~ 1 g/dL de diferencia. El intervalo de ADE o RDW se observa desplazado hacia la derecha en comparación con el intervalo de referencia usado actualmente. En los intervalos obtenidos para las plaquetas fueron más estrechos que sus pares actuales, el límite bajo de los intervalos actuales contemplan, en promedio, 10,000 plaquetas/ μ L más que el límite inferior obtenido en el cálculo.

En el caso del límite superior calculado para plaquetas, tuvo un desplazamiento promedio hacia la izquierda de 90,000 plaquetas/ μ L respecto al límite alto actual con 500,000 plaquetas/ μ L (cuadro II).

El cuadro III muestra los datos obtenidos para la cuenta diferencial porcentual y los valores absolutos de los leucocitos. En la cuenta diferencial porcentual se determinó que los intervalos de referencia

Cuadro I.

Género	Edad (años)	n	Intervalo calculado	Intervalo del inserto
Leucocitos (miles/μL)				
Femenino	0-1	141	5.10 – 18.10	4.5 – 17.0
	2-5	367	4.04 – 13.10	6.0 – 14.0
	6-10	434	3.67 – 10.09	5.0 – 14.0
	11-15	512	3.59 – 10.73	5.0 – 13.0
	16-20	843	3.98 – 10.80	4.5 – 13.0
	> 20	18,723	3.56 – 10.30	4.5 – 10.0
Masculino	0-1	178	5.01 – 18.10	4.5 – 17.0
	2-5	468	4.29 – 12.40	6.0 – 14.0
	6-10	437	3.60 – 10.10	5.0 – 14.0
	11-15	469	3.50 – 9.08	5.0 – 13.0
	16-20	599	3.45 – 9.12	4.5 – 10.0
	> 20	11,280	3.84 – 9.79	4.5 – 10.0
Eritrocitos (millones/μL)				
Femenino	0-1	141	3.84 – 5.50	4.5 – 5.3
	2-5	367	4.16 – 5.52	4.0 – 5.2
	6-10	434	4.31 – 5.64	4.3 – 5.4
	11-15	512	4.33 – 5.63	4.3 – 5.4
	16-20	843	4.00 – 5.46	4.5 – 5.2
	> 20	18,744	3.87 – 5.44	4.5 – 5.2
Masculino	0-1	178	4.02 – 5.49	4.7 – 5.3
	2-5	469	4.25 – 5.66	4.0 – 5.2
	6-10	437	4.41 – 5.69	4.3 – 5.4
	11-15	469	4.62 – 6.05	4.3 – 5.4
	16-20	600	4.81 – 6.18	4.7 – 5.8
	> 20	11,289	4.39 – 6.10	4.7 – 5.8
Hemoglobina (g/dL)				
Femenino	0-1	141	11.14 – 14.70	12.0 – 15.0
	2-5	367	11.40 – 15.79	11.5 – 15.0
	6-10	434	12.16 – 16.10	12.6 – 15.5
	11-15	512	12.90 – 16.30	13.0 – 15.5
	16-20	845	12.20 – 16.20	12.0 – 16.0
	> 20	18,926	11.70 – 16.30	12.0 – 16.0
Masculino	0-1	178	10.60 – 15.36	14.0 – 15.0
	2-5	469	11.60 – 15.30	11.5 – 15.0
	6-10	437	12.50 – 16.00	12.6 – 15.5
	11-15	469	13.20 – 17.62	13.0 – 15.5
	16-20	600	14.90 – 18.65	14.0 – 18.0
	> 20	11,292	13.80 – 18.50	14.0 – 18.0

Cuadro II.				
Género	Edad (años)	n	Intervalo calculado	Intervalo comparación
Hematocrito (%)				
Femenino	0-1	140	33.68 – 46.15	37.0 – 40.0
	2-5	367	35.90 – 47.10	35.0 – 45.0
	6-10	434	37.10 – 48.00	36.0 – 46.0
	11-15	511	39.50 – 49.15	36.0 – 46.0
	16-20	843	36.60 – 49.17	37.0 – 47.0
	> 20	18,682	35.40 – 49.40	37.0 – 47.0
Masculino	0-1	159	32.37 – 44.92	32.0 – 40.0
	2-5	402	35.60 – 46.52	35.0 – 45.0
	6-10	385	37.10 – 48.00	36.0 – 46.0
	11-15	397	39.50 – 49.15	36.0 – 46.0
	16-20	533	36.60 – 49.17	40.0 – 54.0
	> 20	9,901	35.40 – 49.40	40.0 – 54.0
VCM (fL)				
Femenino	0-1	141	75.40 – 90.78	78.0 – 99.0
	2-5	367	78.30 – 90.80	70.0 – 99.0
	6-10	434	79.02 – 92.90	70.0 – 99.0
	11-15	513	80.92 – 96.57	75.0 – 99.0
	16-20	843	82.90 – 98.60	77.0 – 99.0
	> 20	18,682	83.30 – 100.0	78.0 – 99.0
Masculino	0-1	159	75.95 – 88.40	78.0 – 99.0
	2-5	402	75.91 – 89.74	70.0 – 99.0
	6-10	385	78.70 – 91.20	70.0 – 99.0
	11-15	397	81.20 – 94.10	75.0 – 99.0
	16-20	533	84.15 – 97.60	77.0 – 99.0
	> 20	9,901	84.40 – 100.0	78.0 – 99.0
HCM (pg)				
Femenino	Todas	21,042	26.8 – 33.2	27.0 – 31.0
Masculino	Todas	13,442	27.1 – 33.5	27.0 – 31.0
CMHC (g/dL)				
Femenino	Todas	21,042	31.0 – 34.4	32.0 – 36.0
Masculino	Todas	13,442	31.6 – 34.8	32.0 – 36.0
ADE (%)				
Femenino	Todas	21,042	12.0 – 17.7	12.0 – 17.7
Masculino	Todas	13,442	11.8 – 17.6	11.8 – 17.6
Plaquetas (miles/μL)				
Femenino	Todas	21,064	167 – 431	150 – 500
Masculino	Todas	13,438	147 – 384	150 – 500

Abreviaturas: VCM = Volumen corpuscular medio. HCM = Hemoglobina corpuscular media. CMHC = Concentración media de hemoglobina corpuscular. ADE = Amplitud de la Distribución del Volumen de Eritrocitos

Cuadro III.

Género	Edad (años)	n	Intervalo calculado	Intervalo comparación
Neutrófilos (%)				
Ambos	0 - 1	171	12.20 - 53.47	10.0 - 74.0
	2 - 5	738	20.00 - 65.70	25.0 - 50.0
	6 - 10	829	26.28 - 69.60	25.0 - 58.0
	11 - 15	935	32.42 - 71.38	25.0 - 60.0
	16 - 20	1402	36.49 - 75.71	34.0 - 74.0
	> 20	28,966	39.60 - 76.10	34.0 - 74.0
Linfocitos (%)				
Ambos	0 - 1	171	28.20 - 78.66	21.0 - 65.0
	2 - 5	738	23.89 - 70.36	30.0 - 60.0
	6 - 10	829	18.48 - 62.98	21.0 - 45.0
	11 - 15	935	18.30 - 57.07	21.0 - 45.0
	16 - 20	1402	16.56 - 51.65	21.0 - 48.0
	> 20	28,966	15.50 - 48.60	21.0 - 48.0
Monocitos (%)				
Ambos	0 - 1	171	0.21 - 12.30	2.0 - 12.0
	2 - 5	738	1.74 - 11.00	2.0 - 10.0
	6 - 10	829	2.64 - 10.10	2.0 - 9.0
	11 - 15	935	3.10 - 9.80	2.0 - 9.0
	16 - 20	1402	3.30 - 9.60	2.0 - 8.0
	> 20	28,966	3.40 - 10.10	2.0 - 8.0
Basófilos (%)				
Femenino	Todas	20,237	0.0 - 1.4	0.0 - 1.0
Masculino	Todas	12,804	0.0 - 1.6	0.0 - 1.0
Eosinófilos (%)				
Femenino	Todas	20,237	0.3 - 5.5	1.0 - 4.0
Masculino	Todas	18,804	0.3 - 4.5	1.0 - 4.0
LUC (%)				
Femenino	0 - 16	433	1.1 - 4.9	0.0 - 5.0
	> 16	6,072	1.0 - 3.4	0.0 - 4.0
Masculino	0 - 16	443	1.3 - 4.8	0.0 - 5.0
	> 16	3629	1.1 - 3.4	0.0 - 4.0
Neutrófilos absolutos (miles/μL)				
Ambos	0 - 1	171	1.04 - 5.82	0.60 - 7.40
	2 - 5	738	1.15 - 5.87	1.50 - 7.00
	6 - 10	829	1.21 - 5.63	1.25 - 8.12
	11 - 15	935	1.31 - 5.71	1.25 - 7.80
	16 - 20	1401	1.63 - 6.75	1.80 - 8.00
	> 20	28,965	1.71 - 6.48	1.53 - 7.40

Continuación Cuadro III.				
Género	Edad (años)	n	Intervalo calculado	Intervalo de comparación
Linfocitos absolutos (miles/μL)				
Ambos	0 - 1	171	2.58 - 7.86	1.80 - 11.05
	2 - 5	738	1.65 - 6.39	1.80 - 8.40
	6 - 10	829	1.30 - 4.30	1.05 - 6.30
	11 - 15	935	1.18 - 3.78	1.05 - 5.85
	16 - 20	1,401	1.15 - 3.36	0.94 - 4.80
	> 20	28,965	0.99 - 3.24	0.94 - 4.80
Monocitos Absolutos (miles/μL)				
Ambos	0 - 1	171	0.02 - 1.32	0.09 - 2.04
	2 - 5	738	0.09 - 0.86	0.12 - 1.40
	6 - 10	829	0.15 - 0.75	0.10 - 1.26
	11 - 15	935	0.16 - 0.69	0.10 - 1.17
	16 - 20	1,401	0.18 - 0.72	0.09 - 0.80
	> 20	28,965	0.19 - 0.71	0.09 - 0.80
Eosinófilos absolutos (miles/μL)				
Ambos	0 - 1	171	0.00 - 0.62	0.06 - 0.72
	2 - 5	738	0.02 - 0.39	0.06 - 0.56
	6 - 10	829	0.02 - 0.34	0.05 - 0.56
	11 - 15	935	0.03 - 0.35	0.05 - 0.52
	16 - 20	1,401	0.02 - 0.30	0.04 - 0.40
	> 20	28,965	0.02 - 0.32	0.04 - 0.40
Basófilos absolutos (miles/μL)				
Ambos	0 - 20	4,075	0.0 - 0.09	0.01 - 0.10
	> 20	28,965	0.0 - 0.09	0.01 - 0.10

LUC = Células grandes sin teñir (*large unstained cells*).

calculados para los valores porcentuales de los neutrófilos y linfocitos fueron más amplios que los intervalos actuales. El intervalo porcentual calculado para los monocitos se observó desplazado hacia la derecha $\sim 1\%$ en ambos extremos. En el caso de los basófilos, el intervalo fue ligeramente desplazado hacia la derecha en el límite superior con $\sim 0.5\%$ del intervalo actual. Los eosinófilos mostraron intervalos más amplios en ambos extremos con respecto a los intervalos actuales, con una diferencia considerable en el límite superior del género femenino de 1.5% . Mientras que el porcentaje de LUC mostró intervalos más estrechos que

los intervalos actuales, principalmente en pacientes mayores de 16 años. Los intervalos de referencia para los valores absolutos de neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos mostraron un rango más reducido en comparación con los intervalos de referencia actuales (*cuadro III*).

Discusión

La biometría hemática es uno de los exámenes con mayor relevancia para la valoración diagnóstica de pacientes con enfermedades hematológicas. En la actualidad, los valores hematológicos son indispen-

sables en la práctica médica porque permiten la toma decisiones de tipo diagnóstico, terapéutico o simplemente para el monitoreo de un paciente. Los resultados de las determinaciones de las pruebas de laboratorio clínico, son interpretados con base en su comparación con los valores de referencia, los cuales varían de acuerdo a las características individuales y el entorno de una población.

El CLSI recomienda la partición en grupos etarios para poder establecer intervalos más confiables y evitar la variabilidad de los cambios fisiológicos normales en el transcurso de la vida de un individuo.⁸ En la población analizada se determinó en un estudio previo, los cambios biocronológicos en los intervalos de referencia.⁹ La comparación de los resultados obtenidos en la biometría hemática y los intervalos de referencia establecidos por el fabricante mostró variaciones: En el caso de los leucocitos, la variabilidad con respecto a los intervalos de comparación es hasta ~ 3.92 miles/ μL en ambos géneros. Los eritrocitos varían hasta 1.5 millones/ μL y en la hemoglobina se obtuvo variación de 2.12 g/dL. La variabilidad en los intervalos de las plaquetas es de 3 hasta 116 miles/ μL . El hematocrito tiene una variación de 0.33 hasta 6.15 %, mientras que en el VCM desde 0.40 hasta 10.6 fL.

En el caso de la serie blanca, se observan en neutrófilos rangos de diferencia de 1.28 hasta 20.53%, en linfocitos diferencias desde 2.52 hasta 17.98%. Los valores absolutos para neutrófilos se observan diferencias desde 0.04 y hasta 2.49 miles/ μL . Para los linfocitos observamos diferencias de 0.05 hasta 3.19 miles/ μL . Para la HCM, CMHC y ADE los intervalos difieren ligeramente. En el caso de los monocitos, eosinófilos y basófilos, tanto los valores porcentuales como los valores absolutos son muy similares a los utilizados actualmente. La variabilidad observada en los diferentes parámetros

evaluados involucra la altitud de la población analizada, entre otras variables geográficas y raciales.^{2,10}

Conclusiones

Los intervalos de referencia en hematología varían de acuerdo a la edad, sexo, altitud, por lo cual cada laboratorio debería establecer sus propios límites de referencia. En los resultados obtenidos presentan variabilidad con respecto a los valores de referencia, los siguientes parámetros: Leucocitos, eritrocitos, hemoglobina, VCM, plaquetas, neutrófilos y linfocitos, tanto en porcentuales como en valores absolutos.

Referencias

1. Almaguer CG. Interpretación clínica de la biometría hemática. Medicina Universitaria 2003; 5 (18): 35-40.
2. Hurtado RM, Mellado YO, Flores GR, Vargas PV. Semiología de la citometría hemática. Rev Fac Med UNAM 2010; 53 (4): 36-43.
3. Boyd JC. Defining laboratory reference values and decision limits: Populations, intervals, and interpretations. Asian J Androl 2010; 12: 83-90.
4. Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: A review. Vet Clin Pathol 2009; 38 (3): 288-298.
5. Fraser CG. Biological variation: From principle to practice. USA: American Association for Clinical Chemistry; 2001. p. 91-116.
6. Gómez TPJC, Bustinza LE, Huarachi A. Valores de referencia de algunas pruebas bioquímicas y hematológicas en personas adultas sanas del Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú 2000-2001. Rev Mex Patol Clin 2003; 50 (1): 41-49.
7. Terrés-Speziale MA. Importancia de la variabilidad biológica y de la relevancia médica en la Norma ISO-15189. Rev Mex Patol Clin 2006; 53(4): 185-196.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guidelines. 3rd ed. CLSI document C28-A3. Wayne, PA: 2008; 11-25.
9. Terrés-Speziale MA, Razo MD. Fórmula roja: límites de referencia biocronológicos y niveles de decisión clínica en población mexicana. Rev Med IMSS 2000; 38(4): 313-321.
10. Rodríguez MA, Schlottfeldt YE, Vela V, Inchaustegui JL, Herrera C, Rosales MA. Intervalos de confianza de la fórmula eritrocítica en habitantes adultos de la ciudad de Comitán de Domínguez (Chiapas, México). Higiene y Sanidad Ambiental 2007; 7: 270-275.

Instrucciones para los autores

La **Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**, publica en español e inglés artículos originales, artículos de revisión, reporte de casos clínicos, cartas al editor y editoriales por invitación, relacionados con los aspectos clínicos, epidemiológicos y básicos de la Medicina de Laboratorio (Patología Clínica) y sus ramas afines.

Los manuscritos deben prepararse de acuerdo a los *Requerimientos Uniformes para el Envío de Manuscritos a Revistas Biomédicas* desarrollados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas. La versión actualizada se encuentra disponible en: www.ICMJE.org

El envío del manuscrito implica que éste es un trabajo aún no publicado, excepto en forma de resumen, y que no será enviado simultáneamente a ninguna otra revista. Los manuscritos aceptados serán propiedad de la **Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio** y no podrán ser publicados (ni completos, ni parcialmente) en ninguna otra parte sin consentimiento escrito del editor.

Los artículos son sometidos a revisión por pares con árbitros experimentados.

Los manuscritos originales recibidos no serán devueltos. El autor principal debe guardar una copia completa.

IMPORTANTE

Las características con las que deben ser presentados los manuscritos se muestran a continuación en la *Lista de Verificación*.

Los autores deberán sacar fotocopias de ella e ir marcando cada apartado una vez que éste haya sido cubierto durante la preparación del material para publicación.

La hoja con *Lista de Verificación* deberá enviarse junto con el manuscrito; también se deberá adjuntar la forma de *Transferencia de Derechos de Autor*.

Los manuscritos inadecuadamente preparados o que no sean acompañados de la *Lista de Verificación*, serán regresados al autor.

Lista de Verificación

Marque con una cruz cuando cada apartado haya sido debidamente cubierto de acuerdo a lo especificado

251

Preparación de manuscritos

- ___ Envíe tres copias completas escritas a doble espacio con márgenes de 2.5 cm en un papel tamaño carta (21.5 x 28 cm).
- ___ Presente el manuscrito iniciando cada componente en una página separada: (1) Página del título, (2) Resúmenes y palabras clave, (3) Texto del artículo (Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones), (4) Referencias, (5) Cuadros, (6) Leyendas de las figuras, (7) Figuras.
- ___ Anexe fotocopias de página completa de cada una de las figuras al final de cada juego del manuscrito.
- ___ Ponga el número de la página y el apellido del primer autor en la esquina superior derecha de cada página.
- ___ Cite referencias, cuadros y figuras consecutivamente y conforme aparezcan en el texto.
- ___ Carta del primer autor, de transferencia de derechos a la "**Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**". También deberá confirmar que tienen el permiso escrito de todas las personas a las que se ofrezca reconocimiento y sean mencionadas en el artículo.

1) Página de Título

- ___ **Título.** En español e inglés. No usar abreviaciones. Límite: 120 caracteres en cada idioma.
- ___ **Título corto (para cornisas).** Límite: 45 caracteres.

___ **Autores.** Incluya los primeros nombres de todos los autores y el nombre y la localización del departamento o institución donde se efectuó el trabajo (**Nota:** La autoría debe ser limitada a aquellos que contribuyeron sustancialmente al diseño del estudio, al análisis de los datos o a la redacción del manuscrito).

___ **Abreviaciones.** - Ponga en orden alfabético las abreviaciones no convencionales utilizadas en el manuscrito, y su significado.

___ **Correspondencia.** - Incluya dirección completa con código postal; teléfono, número de fax del autor responsable, E-mail.

2) Resúmenes

___ Límite: 200 palabras. Organícelo de acuerdo a: antecedentes, métodos, resultados y conclusiones. No utilice abreviaciones ni cite referencias.

___ En español e inglés.

___ Palabras clave: en español e inglés.

3) Texto

___ Describa las guías éticas seguidas para estudios en humanos o animales; cite la aprobación de los comités institucionales de investigación y ética.

___ Describa los métodos estadísticos utilizados.

___ Identifique drogas y químicos utilizados por su nombre genérico.

4) Referencias

____ Cite las referencias en el orden de aparición en el texto, utilizando números arábigos entre paréntesis.

Las comunicaciones personales y datos aún no publicados, cítelos directamente en el texto. No los numere ni los incluya en la lista de referencias.

____ Las abreviaciones de los títulos de publicaciones deben estar de acuerdo a las utilizadas en el *Index Medicus*.

____ De Artículo (anote máximo 5 autores; si son más, marque *et al*), ejemplo:

Barriga G, Castillo NP, Dehesa R. Seroepidemiología de la hepatitis viral tipo E en México. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 1996;43(4):148-151.

____ De Libro, ejemplo:

Galperin A. *Gynecological Disorders*. N York, Chelsea House, 1991.

____ De Artículo en libro, ejemplo:

Navarrete C. *Infertilidad*. En: Guízar J. *Genética Clínica. Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias*. 2a. ed. México: El Manual Moderno, 1994: 445-461.

5) Cuadros

____ A doble espacio, cada uno en hoja separada.

____ Numerarlos de acuerdo a su orden de aparición en el texto.

____ El número y título del cuadro aparecen arriba del mismo y las notas explicatorias abajo de éste.

6) Leyendas de las figuras

____ A doble espacio y numeradas de acuerdo a su orden de aparición.

____ Provea suficiente información para permitir la interpretación de la figura sin necesidad de referirse al texto.

7) Figuras

____ Envíe tres juegos de fotografías de alta calidad o generadas en láser, cada juego en sobre separado. Deben ser de tamaño adecuado para publicación (tamaño postal).

____ Anexe fotocopias de página completa con cada copia del manuscrito.

____ Identifique cada figura con el apellido del primer autor, número de la figura y una fecha indicando la parte superior. Escriba estos datos sobre etiquetas autoadheribles y péguelas en la parte posterior de cada figura.

____ Las fotografías en las que aparecen pacientes identificables deberán acompañarse de permiso escrito para publicación otorgado por el paciente. De no ser posible contar con este permiso, una parte del rostro de los pacientes deberá ser tapado sobre la fotografía.

Dirija todos los manuscritos a:

Dr. Enrique Navarrete Cadena, Editor

Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio E-mail: enavarrete@medigraphic.com
revista.patologiaclinica@gmail.com

Transferencia de Derechos de Autor

Título del artículo:

Autor (es):

En el caso de que los autores certifiquen que el artículo arriba mencionado es trabajo original y no ha sido previamente publicado excepto en formas de resumen, y sea aceptado para publicación en la **Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**, los derechos de autor serán transferidos a **Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**.

Firma de todos los autores

Lugar y fecha: