

Cohorte 2024

Trabajos finales

Práctica Profesional Obligatoria (PPO)

Carrera de Bioquímica

Facultad de Ciencias
Bioquímicas y Farmacéuticas
FBIOyF UNR



Universidad
Nacional
de Rosario

Carrera de Bioquímica
Ciclo de Formación Profesional

Práctica Profesional Obligatoria (PPO)

Trabajos Finales
Cohorte 2024

Responsables:

Dra. Arianna Pratti

Dra. Alejandra Ensinck

Dr. Maximiliano Sortino

Dra. Stella Mattaloni

Asignatura: Práctica Profesional Obligatoria (PPO)

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas,

Universidad Nacional de Rosario

<https://www.fbioyf.unr.edu.ar/>

2024



Atribución/Reconocimiento-NoComercial-SinDerivados 4.0
Internacional <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Imagen de cubierta y contratapa: Roger Brown <https://www.pexels.com/es-es/foto/rojo-medico-concepto-biologia-5149400/>

Organización, compilación, diseño y maquetación:

Dra. Patricia Marchiaro (Área Bacteriología)

Bioq. Esp. María Susana Díaz (Área Bacteriología)

Lic. Fernando Díaz Pacífico (Biblioteca Hipólito González)

Introducción

Este libro reúne los Trabajos Finales elaborados por los estudiantes que completaron la Práctica Profesional Obligatoria (PPO) en diversos efectores públicos y privados de nuestra ciudad y del Gran Rosario. A lo largo de este trayecto formativo, los docentes de nuestra Facultad desempeñaron un rol fundamental como tutores académicos, brindando acompañamiento y orientación que resultaron claves para la construcción y el desarrollo de los trabajos presentados, en los que los estudiantes plasmaron los aprendizajes y experiencias adquiridas en el ámbito profesional.

Asimismo, la activa participación de otros profesionales –co-formadores en cada laboratorio– enriqueció significativamente tanto la formación de los estudiantes como la elaboración de sus producciones finales.

Cada Trabajo Final consta de dos instancias: la presentación de un documento escrito y su correspondiente defensa oral mediante la exposición de un póster. Los estudiantes de la cohorte 2024 realizaron esta defensa durante la Jornada Educativa de la FCByF-UNR, celebrada el 6 de septiembre de 2024.

Tabla de contenido

Trabajo Final (TF)	Alumno/a	Tutor Académico	Lugar de realización
TF01	Simon Alcala, Karen; Serra, Lara	Tosello, María Elena	Laboratorio de Análisis bioquímicos - OSECAC
TF02	Scataglini, Molys	Hernández, Malen	Laboratorio IBC
TF03	Castro, María Belén; Calgaro, Mariana; Morri, Dolores	Sciarratta, Patricia	Laboratorio Central - Hospital Provincial del Centenario
TF04	Masiá Rojkin, María Paz; Herrera, Camila	Rubies, Georgina	Hospital de Niños Zona Norte
TF05	Acosta, Fabrina Rocío; Ahmad, Yadia Marisol	Rossi, Juan Ángel	Hospital Escuela Eva Perón

Trabajo Final (TF)	Alumno/a	Tutor Académico	Lugar de realización
TF06	Magurno, Tomás; Cervesato, Gina	Basiglio, Cecilia	Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (C.E.M.A.R.)
TF07	Harriet, Celeste	Sorribas, Aranza	Hospital de Niños Victor J. Vilela
TF08	Ragni, Enzo Nahuel	Dalmaso, Hernan	Centro de Referencia de Micología (Ceremic)- Hospital Provincial del Centenario
TF09	Sadone, Julia	Trucco Boggione, Carolina	Laboratorio inmunohematología, FCByF- UNR-, Hospital Provincial del Centenario
TF10	Franz, Giana	Balbi, Bárbara	Hospital Dr. Roque Saenz Peña

Trabajo Final (TF)	Alumno/a	Tutor Académico	Lugar de realización
TF11	Bernat, Yaco	Perez, Jorgelina	Servicio de Bacteriología, FCByF-UNR-Hospital Provincial del Centenario
TF12	Traverso, Valentina	Supersaxco, Raul	Hospital Provincial de Rosario
TF13	Gorgoglioni, Marco; Ávalos, Agostina	Colombo, Laura	Hospital Escuela Eva Perón
TF14	Majluff, Dolores	Micucci, María Lorena	Hospital Provincial del Centenario
TF15	Manno, Fabrizio; Pérez, Santiago	Ghersevich, Sergio	Laboratorios CIBIC
TF16	Valenziano, Melisa	Diviani, Romina	Laboratorio SILAB
TF17	Ramos, Lautaro	Ensinck, María Alejandra	Laboratorios TURNER
TF18	Montenegro, Laura; Borsini, Ana; Cimino, Solange	Pretto, Lautaro	Laboratorios CIBIC

Trabajo Final (TF)	Alumno/a	Tutor Académico	Lugar de realización
TF19	Santanera, Manuel	Bonavita, Daniela	Sanatorio Parque
TF20	Damasco, Araceli; Michelsoni, Josefina	Munuce, María José	Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez (HECA)
TF21	Gunzinger, Paula; Hernet, Camila	Martínez, Carolina	Sanatorio Británico
TF22	Fornari, Milena; Domenech, Milagros	Rinaudo, Mariángel	Sanatorio Británico
TF23	Franco, María Celeste	Cerdan, María Celeste Indelman, Paula	Hospital Juan Bautista Alberdi
TF24	Juchani, Hernan	Schoepf, Victoria Raviola, Mariana	Hematología, FCByF-UNR, Hospital Provincial del Centenario
TF25	Arcadi, Franco	Pezzarini, Eleonora	Hospital Intendente Gabriel Carrasco

Trabajo Final (TF)	Alumno/a	Tutor Académico	Lugar de realización
TF26	Vacca, Trinidad	Cavatorta, Ana Laura	Área Virología, FCByF-UNR, Hospital Provincial del Centenario

Alumnas: Simón Alcalá, Karen; Serra, Lara

Tutor Académico: Tosello, María Elena

Lugar de realización: Laboratorio de Análisis Bioquímicos

- OSECAC

Póster



EL IMPACTO DE LAS DISLIPEMIAS EN LOS CONDUCTORES DE TRANSPORTE PÚBLICO



Serra, Lara¹; Simón Alcalá, Karen¹; Carena, Hugo²; Zanich, Mirko²; Riego, Carlos²; Casadei, Walter²; Falena, Gerardo²; Tosello, María Elena¹.

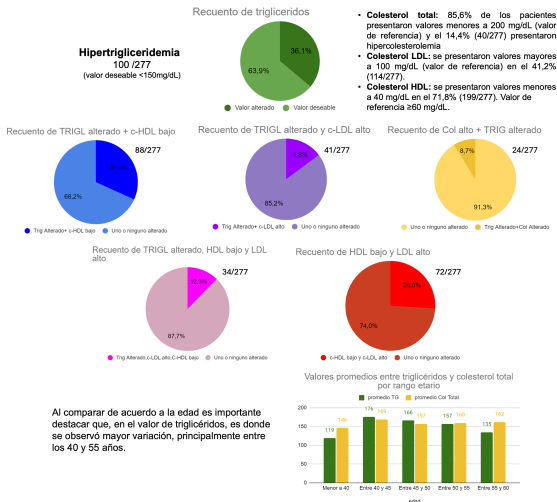
¹ Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² Laboratorio de Análisis Bioquímicos, LAB.

PRESENTACIÓN

OBJETIVO: en este trabajo se intenta visualizar como puede influir la actividad laboral en los trastornos metabólicos como las dislipemias.

Trabajamos con 277 resultados de análisis clínicos de individuos de sexo masculino, conductores de UTA, en un rango de edad entre 30 y 60 años, durante un período de 6 meses.

RESULTADOS



CONCLUSIONES

Se observó que los conductores poseen una gran prevalencia de poseer dislipemias, en cualquiera de sus tipos; lo cual se agrava en aquellos que, presentan mayor sedentarismo, enfermedades previas, dietas pocas saludables, jornadas largas de trabajo, horarios irregulares, pocas comodidades y elevados niveles de estrés. Al momento de la toma de la muestra, la anamnesis al paciente es importante, de acuerdo a su tipo de dieta, medicamentos que toma y si posee enfermedades previas, para poder ofrecerle un informe de resultados adecuado, asentando la información en la historia clínica del mismo para futuros análisis bioquímicos.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29255>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

2024

El Impacto de las Dislipemias en los Conductores de Transporte Público

Autores

- Serra, Lara
- Simón Alcala, Karen

Institución de rotación

- LAB- Laboratorio de Análisis Bioquímicos

Tutores

- Tosello, María Elena

- **PRESENTACIÓN:**

En este trabajo se intenta visualizar cómo puede influir la actividad laboral sedentaria de los conductores de transporte público y relacionarlo con los trastornos metabólicos como las dislipemias. A través de este análisis, buscamos comprender mejor los factores subyacentes y las complicaciones para la salud.

Para la realización del mismo, trabajamos con 277 resultados de análisis clínicos (colesterol total, HDL y LDL) de individuos de sexo masculino, conductores de UTA, en un rango de edad entre 30 y 60 años, durante un periodo de 6 meses. Dichos resultados se analizaron mediante gráficos, que fueron comparados con lo que se encontró en la bibliografía consultada, y en general arrojó un resultado variado.

MARCO TEÓRICO:

1. Dislipemias:

La dislipemia es una alteración en las concentraciones plasmáticas de lípidos y/o lipoproteínas.

Es un factor de riesgo asociado a enfermedad cardiovascular aterosclerótica.

El riesgo de enfermedad cardiovascular aumenta con los niveles plasmáticos de colesterol, por lo que el diagnóstico precoz de las dislipemias y su clasificación certera, permiten implementar estrategias de prevención y/o tratamiento adecuados a cada paciente.

Las dislipemias pueden ser clasificadas teniendo en cuenta diferentes criterios.

A. Según el perfil lipídico

- Hipercolesterolemia aislada: aumento del colesterol total a expensas del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL).
- Hipertrigliceridemia aislada: aumento de los triglicéridos de origen endógeno, exógeno, o ambos.
- Hiperlipemia mixta: aumento del colesterol total y los triglicéridos.
- Hipoalfalipoproteinemia: disminución del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL).

B. Según la etiología

- Primarias: Son dislipemias de causa genética.
 - Adquiridas: Son producidas por situaciones que derivan de hábitos incorporados por el paciente.
 - Secundarias: Son consecuencia de la presencia de otra patología de base.
- C. Según Fredrickson-OMS: Esta clasificación también llamada fenotípica, se basa en el lípido y lipoproteína aumentados.

2. Diagnóstico de las dislipemias

a) Perfil básico de lípidos y lipoproteínas:

En todos los adultos mayores de 20 años, el primer estudio debe comprender las siguientes determinaciones:

- Triglicéridos: se considera a la hipertrigliceridemia como un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. A su vez, en distintas situaciones clínicas el aumento en los niveles plasmáticos de triglicéridos se correlaciona con la presencia de lipoproteínas modificadas con potencial aterogénico elevado, como ser LDL pequeñas y densas. El valor óptimo para los triglicéridos es menor de 150 mg/dl.
- Colesterol total: El valor de colesterol total aislado, salvo que se encuentre francamente aumentado, aporta poca información en cuanto a la evaluación del riesgo cardiovascular.
- C-LDL: Si bien puede calcularse mediante la fórmula de Friedewald. No obstante, se acepta que esta fórmula puede utilizarse si el valor de concentración de triglicéridos es menor de 200 mg/dl.
- C-HDL: Un gran número de estudios clínicos demuestra una correlación negativa entre el C-HDL y la incidencia de enfermedad aterosclerótica.

b) Índices de riesgo aterogénico:

- Colesterol total/C-HDL: este índice, también llamado de Riesgo Aterogénico o de Castelli, permite pronosticar el riesgo de enfermedad cardiovascular.
- C-VLDL/Triglicéridos: este índice permite estimar la calidad de las VLDL.

- Triglicéridos/C-HDL: cuando este índice es $\geq 3,5$ puede ser utilizado como marcador de resistencia insulínica y del predominio de las LDL pequeñas y densas, altamente aterogénicas.¹

3. Factores de riesgo asociados con las dislipemias.

1. **Dieta poco saludable:** Consumir alimentos ricos en grasas saturadas y grasas trans puede aumentar el riesgo de dislipemia.
2. **Falta de actividad física:** La falta de ejercicio regular puede contribuir al desarrollo de niveles anormales de lípidos en la sangre.
3. **Obesidad o sobrepeso:** El exceso de peso corporal, especialmente cuando se acumula alrededor de la cintura, puede aumentar el riesgo de dislipemia.
4. **Consumo de alcohol:** Puede aumentar los niveles de triglicéridos en la sangre.
5. **Tabaquismo:** Fumar cigarrillos puede reducir los niveles de colesterol HDL y aumentar el riesgo de desarrollar dislipemia.
6. **Genética**
7. **Enfermedades subyacentes:** Condiciones como la diabetes, el hipotiroidismo y algunas enfermedades del hígado pueden aumentar el riesgo de dislipemia.
8. **Estrés:** El estrés crónico puede afectar los niveles de lípidos en la sangre y aumentar el riesgo de dislipemia.
9. **Medicamentos:** Algunos medicamentos, como ciertos anticonceptivos orales, esteroides, diuréticos y betabloqueantes, pueden influir en los niveles de lípidos en la sangre.

4. Consecuencias para la salud y calidad de vida asociados a dislipemias:

1. **Enfermedad coronaria:** La acumulación de colesterol LDL en las arterias puede provocar la formación de placas, lo que aumenta el riesgo de enfermedad coronaria, incluidos ataques cardíacos y angina de pecho.
2. **Hipertensión arterial:** Los altos niveles de triglicéridos y colesterol LDL están asociados con un mayor riesgo de hipertensión arterial, lo que aumenta aún más el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

3. **Accidente cerebrovascular:** Las placas formadas por la acumulación de lípidos pueden desprenderse y obstruir el flujo sanguíneo al cerebro, aumentando el riesgo de accidente cerebrovascular.
4. **Enfermedad vascular periférica:** La acumulación de placa en las arterias de las piernas puede reducir el flujo sanguíneo, lo que puede provocar dolor al caminar y, en casos graves, aumentar el riesgo de gangrena y amputación.
5. **Pancreatitis:** Los niveles elevados de triglicéridos en la sangre pueden aumentar el riesgo de pancreatitis aguda.
6. **Enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA):** La dislipemia, especialmente cuando se asocia con obesidad y resistencia a la insulina, puede contribuir al desarrollo de EHGNA, una afección en la que se acumula grasa en el hígado.
7. **Diabetes tipo 2:** La resistencia a la insulina, que puede estar relacionada con la dislipemia, es un factor de riesgo importante para el desarrollo de diabetes tipo 2.
8. **Síndrome metabólico:** La combinación de obesidad abdominal, hipertensión, niveles anormales de lípidos y resistencia a la insulina aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2. ²

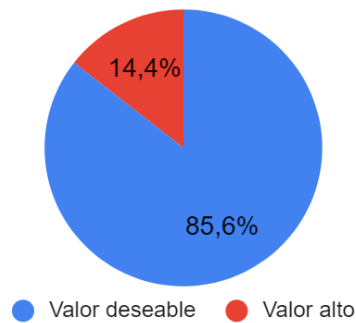
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES:

Se compararon resultados de análisis bioquímicos de 277 pacientes conductores de transporte público, de la obra social UTA, para los cuales se evaluaron colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL.

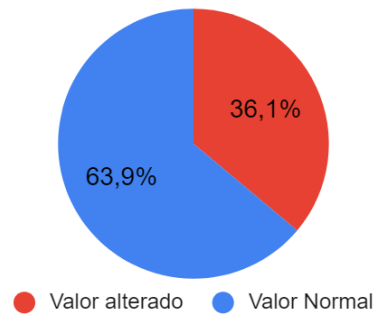
Se analizó la probabilidad de dislipemias en estos pacientes y los problemas que las mismas pueden causar a la salud.

Con los diferentes resultados se construyeron gráficos comparativos entre los valores normales y los valores alterados.

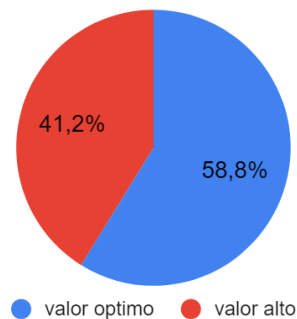
Recuento de Col total



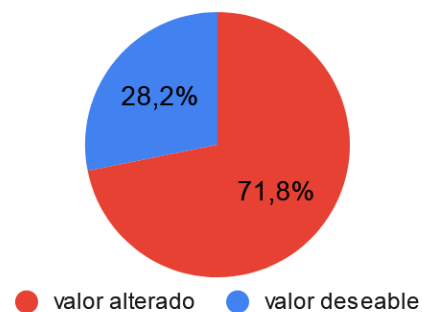
Recuento de trigliceridos



Recuento de C-LDL



Recuento de C- HDL



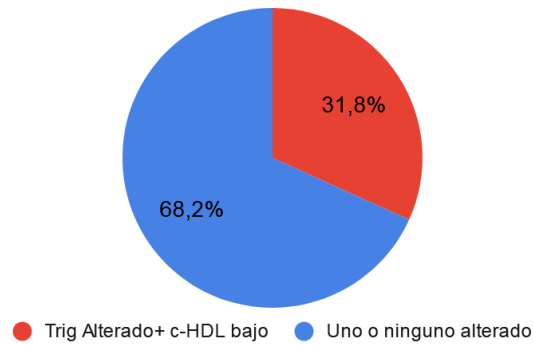
Para cada recuento se calcularon los porcentajes entre pacientes que poseen valores dentro de los óptimos y aquellos con valores alterados, referidos a los valores normales dados por la superintendencia de servicios de salud.³

Para colesterol total se obtuvo que el 85,6% de los pacientes poseen valores menores a 200 mg/dL lo cual se determina como valor deseable y el 14,4% poseen hipercolesterolemia, el 63,9% posee valores de triglicéridos menor a 150 mg/dL siendo un valor normal, 58,8% presenta colesterol LDL menor a 100 mg/dL y solo el 28,2% del total de los casos evaluados obtuvieron valores de colesterol HDL mayor o igual a 40 mg/dL, considerándose un valor alto como protector.

Es importante destacar que de las diferentes dislipemias⁴, se presentaron:

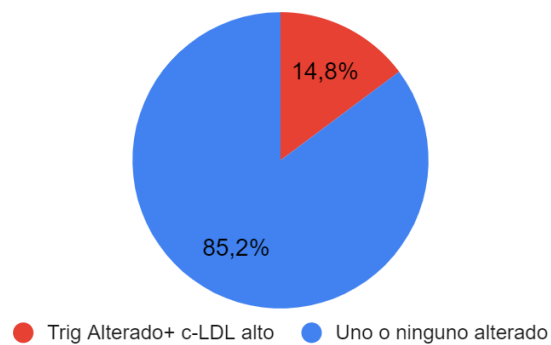
- **Hipertrigliceridemia** en el 36,1% de la población total evaluada.

Recuento de TRIGL alterado + c-HDL bajo



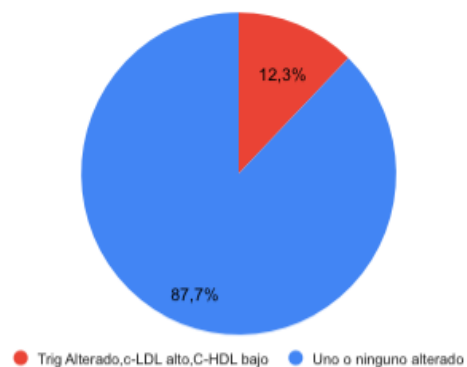
- **Hipertrigliceridemia con C-HDL bajo** en el 31,8% de la población total, recordando que un HDL bajo indica un mayor riesgo aterogénico.

Recuento de TRIGL alterado y c-LDL alto



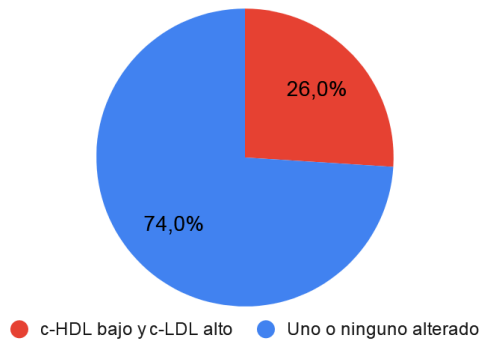
- **Hipertrigliceridemia con C-LDL elevado**, obteniendo alteración en el 14,8% de la población total.

Recuento de TRIGL alterado, HDL bajo y LDL alto



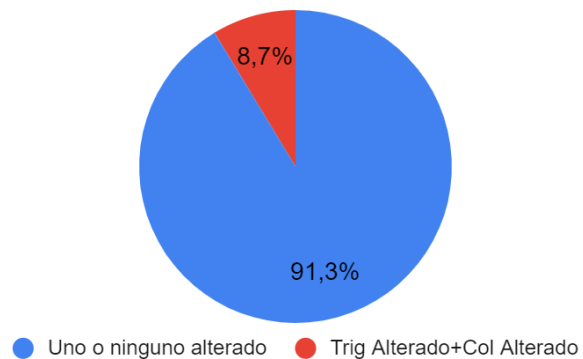
- **Hipertrigliceridemia con c-LDL alto y c-HDL bajo**, se presenta en el 12,3% de la población estudiada.

Recuento de HDL bajo y LDL alto

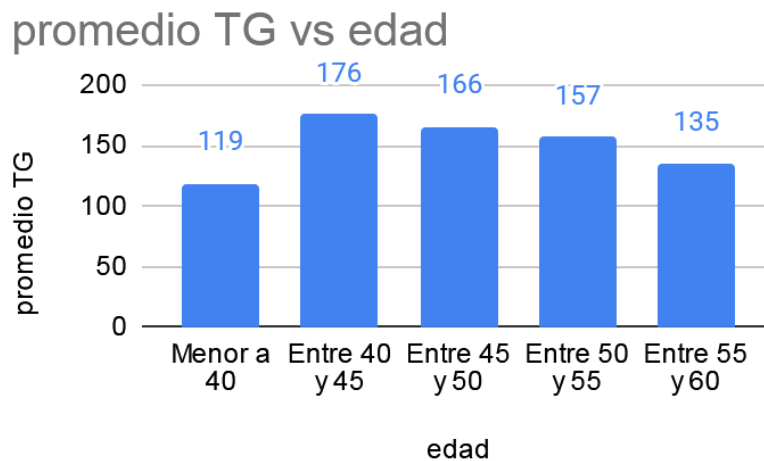


- **C-LDL alto y C-HDL bajo**, se presenta en el 26% de la población.

Recuento de Col alto + TRIG alterado



- A su vez, se obtuvo que, del total de la población estudiada un 8,7% poseen tanto colesterol alto como triglicéridos alterados.



Al comparar de acuerdo a la edad es importante destacar que, en el valor de triglicéridos, es donde se observó mayor variación, siendo destacable que entre los 40 y 55 años, los pacientes presentaban en promedio valores mayores a 150 mg/dL.

Se concluyó con los resultados obtenidos, que los conductores poseen una gran prevalencia de poseer dislipemias, en cualquiera de sus tipos con lo cual esto se agrava en aquellos que, presentan mayor sedentarismo, enfermedades previas, dietas pocas saludables, jornadas largas de trabajo las cuales son en promedio de 8 horas pero en algunos casos pueden extenderse, horarios irregulares, pocas comodidades y elevados niveles de estrés. Un dato importante a tener en cuenta, es que el tráfico congestionado puede generar una gran frustración cuando se tienen que cumplir horarios estrictos. A su vez el trato de los pasajeros también influye, a menudo tienen que lidiar con situaciones desafiantes, de disconformidad o diferentes interacciones negativas, aumentando los niveles de estrés.

PERSPECTIVAS:

Al momento de la toma de la muestra, la anamnesis al paciente es importante, de acuerdo a su tipo de dieta, medicamentos que toma y si posee enfermedades previas, para poder ofrecerle un informe de resultados adecuado, asentando la información en la historia clínica del mismo para futuros análisis bioquímicos.

Ante la gran cantidad de casos con hipertrigliceridemias, evaluamos la posibilidad de que los

pacientes a su vez, puedan poseer diabetes, esto no pudo ser confirmado debido a que, no pudimos obtener valores de hemoglobinas glicosiladas en seguimiento del paciente, por lo tanto descartamos esta posibilidad.

Como comentario final, es importante que los conductores mantengan un estilo de vida saludable, que incluya una dieta equilibrada, ejercicio regular y evitar hábitos como fumar y beber en exceso, para reducir el riesgo de dislipemia y otras enfermedades cardiovasculares. Además, los chequeos médicos regulares pueden ayudar a identificar y abordar cualquier problema de salud relacionado con los lípidos en la sangre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brites, D.F. Gomez Rosso, L.A. Meroño, T. Boero, L.E. Rivera, S. (2010) *Clasificación y diagnóstico bioquímico de las dislipemias*, https://fepreva.org/curso/4to_curso/bibliografia/volumen3/vol3_7.pdf
2. Moreira Cevallos, W.J. Lopez Bailon, A.N. Moreira Loor, C.S. Castro Jalca, J.E. (2022, enero-junio). Prevalencia y factores de riesgo de dislipidemias: un estudio de la situación actual. <https://revistas.itsup.edu.ec/index.php/Higia/article/view/649/1292>
3. Superintendencia de servicios de salud (2008-01-15), Resolución 806/2007. Recuperado el 22 de mayo de 2024. <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resoluci%C3%B3n-806-2007-136716/texto>
4. Linares, S., Bermúdez, V., Rojas, J., González, R., Torres, W., Mejias, J., Olivar, L., Salazar, J., Reyna, N., Bravo, A., Amel, A., & López-Miranda, J. (2015). Prevalencia de dislipidemias y factores psicobiológicos asociados en individuos adultos del municipio Maracaibo, Venezuela. *Síndrome Cardiometabólico Y Enfermedades Crónico Degenerativas*, 3(3). Recuperado a partir de http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_sc/article/view/9507
5. Ponte-Negretti, C.I. Isea-Pérez, J. Lanas, F. Medina, M. Medina, F. Gomez-Mancebo, J. Morales, E. Acevedo, M. Pirskorz, D. Machado, L. Lozada, A. Bryce, A. Lorenzatti, A. Carrera, C. López-Jaramillo, P. Pinto, X. Recuperado el 22 de mayo de 2024. <https://www.sscardio.org/wp-content/uploads/2017/03/Dislipidemia-Aterogenica-en-Latinoamerica-Reporte-2017.pdf>
6. Ministerio de Salud de la Nación, Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2015. Tercera Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades No Transmisibles. https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000544cnt-2015_09_04_encuesta_nacional_factores_riesgo.pdf

Póster



DESCRIPCIÓN DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA EN UN LABORATORIO BIOQUÍMICO



Scataglini, Molys¹; Osters, Delia²; Hernández, Malen¹

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² IBC Laboratorios, Instituto de Bioquímica Clínica de Rosario.

PRESENTACIÓN

Durante mis prácticas en el laboratorio IBC, tuve la oportunidad de pasar por el área de Absorción Atómica, donde adquirí una valiosa e interesante experiencia con tres técnicas fundamentales: espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con horno de grafito, con llama y con generador de hidruros. Trabajamos con muestras de aguas, cervezas, levaduras, orina, suero y sangre entera, realizando determinaciones de zinc, aluminio, cobre, sodio, mercurio, níquel, plomo, antimonio, cromo, manganeso, arsénico y selenio.

MARCO TEÓRICO

La EAA es una técnica analítica utilizada para determinar la concentración de elementos metálicos en una muestra. Para realizar las mediciones, el analito debe ser transformado en átomos gaseosos. Estos átomos absorben la radiación electromagnética a una longitud de onda que es específica para cada elemento, produciendo una señal medible. La cantidad de energía absorbida es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, de acuerdo a la ley de Lambert-Beer.

Componentes básicos de un espectrómetro de absorción atómica:

Técnicas:

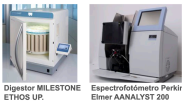
Las diversas formas de atomización dan lugar a las diversas técnicas.

EAA con horno de grafito Atomización electrotrónica. La muestra es dispersada en el interior del horno de grafito, éste se calienta a altas temperaturas, lo que vaporiza y atomiza la muestra. El tubo de grafito está alineado con la luz de la lámpara de cátodo hueco. Así, los átomos generados absorberán la luz proveniente de la lámpara del elemento a determinar.

EAA con llama La muestra es aspirada a través de un nebulizador que genera un aerosol, éste se mezcla con los gases combustibles y oxidantes, siendo transportado al cabezal del quemador. Una vez en la llama, se produce la atomización de la muestra. El número de átomos del metal formados determinará la cantidad de luz absorbida.

EAA con generador de hidruros Se basa en la reacción del analito en una solución ácida, con el borohidruro de sodio para formar hidruros gaseosos del elemento en estudio. Una vez formado, se transporta por una corriente de argón hacia una celda de cuarzo, alineada en el paso óptico.

RESULTADOS



EAA con llama - Determinación de Cu

- Muestra: suero, orina, cerveza
- Indicaciones:
- Cu en suero: ayuno de 8hs. Indicar medicación.
- Cu urinario: orina de 24hs u orina espontánea.
- Cu en materiales varios: 200 u o gr de muestra.
- Pretratamiento de muestra: dilución del suero, y en cerveza eliminamos todo el gas.
- 1-Preparamos la solución estándar y obtenemos la curva de calibración.
- 2-Colocamos a pasar las muestras por el equipo colocando la mariposa dentro del tubo para aspirar. Llega a la llama donde se produce la atomización, el equipo lee absorbancia y hace el cálculo de concentración.

Valores de referencia: -Cu urinario: hasta 80 ug/24h o hasta 50 ug/g de Creatinina.
-Cu en suero: Adultos: 75 - 145 ug/dl - Niños: 80 - 180 ug/dl.
Sensibilidad analítica: 5 ug/dl

EAA con horno de grafito - Determinación de Se

- Muestra: suero.
- Indicaciones: ayuno de 8hs. Indicar medicación.
- Pretratamiento de muestra: dilución.
- 1-Preparamos la solución estándar y obtenemos la curva de calibración.
- 2-Colocamos las muestras en las cubetas, el equipo pipetea 20ul, lo deposita dentro del horno y comienza el ciclo de calentamiento que lleva a cabo la atomización. Se mide la absorción por parte de los átomos de Se, se compara con la curva y se obtiene la concentración de Se en la muestra.

Valores de referencia: Adultos: 4,00 - 15,00 ug/dl
Niños: 7,00 - 15,00 ug/dl
Sensibilidad analítica: 0,05 ug/dl

EAA con generador de hidruros - Determinación de Hg

- Muestra: suero.
- Indicaciones: ayuno de 8hs. Indicar medicación y posible riesgo de exposición.
- Pretratamiento de muestra: digestión para eliminar materia orgánica y evitar formación de espuma.
- 1-Preparamos la solución estándar y obtenemos la curva de calibración.
- 2-Colocamos la muestra y HCl en el recipiente de reacción. Enrocamos el recipiente en el equipo y dispensamos el NaBH4. El Hg presente se convierte en HgH y es arrastrado por una corriente de Ar hacia la celda de cuarzo, donde se produce la absorción y se cuantifica la concentración de Hg.

Valores de referencia: hasta 1,00 ug/dl.
Sensibilidad analítica: 0,01 ug/dl.

CONCLUSIONES

La EAA permite valorar el nivel de elementos metálicos en una amplia gama de matrices, como alimentos, sueros, aguas, bebidas comerciales, muestras biológicas. Con respecto al análisis de muestras biológicas, esta técnica es importante para:

- Diagnóstico y seguimiento de enfermedades, como la enfermedad de Wilson, ya que permite monitorizar los niveles de Cu en el organismo.
- Determinar deficiencias o excesos de minerales en el organismo, por ejemplo de cofactores importantes como lo son el Zn y el Se.
- Evaluar la exposición a determinados tóxicos, como al Hg o Pb.

	VENTAJAS	DESVENTAJAS
EAA	• Alta sensibilidad y selectividad • Puede analizar más de 60 elementos de forma directa. • Preparación de la muestra simple • Pocas interferencias • Manejo sencillo	• Solo puede analizar elementos de uno en uno • Controlar curva de calibración por cada determinación a realizar en el día. • Solo puede analizar muestras en disolución. • Equipos y componentes costosos. • Requiere gases específicos como acetyleno.
EAA con horno de grafito	• Mayor sensibilidad que EAA con llama	• Lento por los ciclos de calentamiento-enfriamiento.
EAA con llama	• Rapido y sencillo	• Mayor cantidad de muestra (mL)
EAA con generador de hidruros	• El más sensible de los tres	• Formación de espumas • Más complejo, involucra reacciones en línea • Aplicación a un número limitado de analitos

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29312>



TRABAJO FINAL 2024

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

CARRERA DE BIOQUÍMICA

**Descripción de la espectrofotometría de absorción
atómica en un laboratorio bioquímico**

Alumna: Scataglini Molys

Tutora: Bioq. Hernández Malén

Institución de rotación: IBC - Instituto de Bioquímica Clínica

PRESENTACIÓN

Durante mis prácticas en el laboratorio IBC, tuve la oportunidad de pasar por el área de Absorción atómica y adquirir una valiosa e interesante experiencia.

A lo largo de ese período pude familiarizarme y trabajar con tres técnicas fundamentales: espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con horno de grafito, con llama y con generador de hidruros. Son técnicas de alta sensibilidad analítica, ampliamente utilizadas para determinar la presencia y concentración de diversos metales y no metales en una amplia gama de matrices.

En cuanto a las muestras utilizadas, durante las prácticas se trabajó con una variedad de ellas, incluyendo muestras de agua, cerveza, levaduras, orina, suero y sangre entera.

Realizamos determinaciones de zinc, aluminio, cobre, sodio, mercurio, níquel, plomo, antimonio, cromo, manganeso, arsénico, selenio.

En el presente trabajo compartiré mi experiencia, lo aprendido en esta área y describiré el proceso de una determinación por cada técnica.

MARCO TEÓRICO

Conceptos teóricos generales de EAA

El átomo está formado por un núcleo rodeado de electrones. Cada elemento tiene un número específico de electrones asociados al núcleo atómico en una estructura orbital que es única para cada elemento. Los electrones ocupan posiciones orbitales de manera ordenada y previsible. La configuración electrónica más estable de un átomo, que además es la de menor energía, se define como “estado fundamental”. Si se aplica energía con una determinada longitud de onda (λ) a un átomo en estado fundamental, esta energía será absorbida por el átomo y un electrón será promovido a un orbital de mayor energía, alcanzando el átomo una configuración menos estable (estado excitado). Este proceso es llamado como absorción atómica. Basándose en la capacidad de un átomo para absorber luz a longitudes de onda específicas, se desarrolla la técnica analítica instrumental llamada Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA).

Para realizar las medidas con esta técnica, el analito debe ser transformado en átomos gaseosos. Estos átomos en forma gaseosa absorben la radiación electromagnética a una longitud de onda que es específica para cada elemento, produciendo una señal medible.

En resumen, esta técnica se fundamenta en tres conceptos:

- 1- Todos los átomos pueden absorber energía.
- 2- La longitud de onda (λ) a la cual la energía se absorbe es específica para cada elemento.
- 3- La cantidad de energía absorbida en esta λ específica es proporcional a la concentración del elemento en la muestra, de acuerdo a la ley de Lambert-Beer.

Componentes básicos

Los componentes básicos de un espectrómetro de absorción atómica son:

- Fuente de energía radiante** que emita en la longitud de onda del elemento de interés. La más común para las mediciones de absorción atómica es la lámpara de cátodo hueco, que consiste en un cilindro relleno con un gas inerte dentro del cual se encuentra un cátodo (construido del metal a analizar) y un ánodo. Al aplicar un cierto potencial a través de los electrodos esta fuente emite el espectro atómico del metal del cual está construido el cátodo. Se utilizan lámparas específicas según el elemento a determinar.
- Sistema de atomización** que suministre la energía necesaria para la disociación del analito y la formación de átomos libres. Existen distintas formas de atomización que dan lugar a las distintas técnicas de espectrofotometría de absorción atómica.
- Monocromador** para aislar las radiaciones a la longitud de onda medida.
- Detector** acoplado con un sistema de registro de los datos obtenidos.

En el funcionamiento de los equipos de Absorción Atómica, la fuente de energía emite una radiación a una determinada longitud de onda (específica para cada analito) con una intensidad inicial (i_0) dirigida al interior de la llama, tubo de grafito o cámara de cuarzo, que contiene átomos en estado fundamental del analito. Estos átomos absorberán la energía y se produce una disminución de la intensidad (i) que será medida en el detector. La cantidad de energía absorbida por los átomos es determinada por comparación de i_0 con i .

Análisis cuantitativo

El parámetro que se utiliza para caracterizar la absorción de energía en EAA, es la absorbancia. Este parámetro sigue una relación lineal con la concentración, siguiendo la ley de Lambert-Beer. Para determinar concentraciones de analito en una muestra, primero deben determinarse las absorbancias de disoluciones estándar o patrones de

concentraciones del analito. Seguidamente se grafica el valor de estas absorbancias vs la concentración, obteniéndose de esta forma la curva de calibración. Una vez establecida la curva de calibración se determina la absorbancia de la muestra y aplicando la relación Absorbancia/concentración de la recta se puede obtener la concentración del analito.

Técnicas

Existen distintas formas de atomización que dan lugar a las diversas técnicas:

✓ ***Espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito***

Es una técnica basada en atomización electrotérmica. La muestra es dispensada en el interior del horno de grafito, y éste se calienta a altas temperaturas por el paso de una corriente eléctrica, lo que vaporiza y atomiza la muestra. El tubo de grafito está alineado con la luz de la lámpara de cátodo hueco. Así, los átomos generados absorberán la luz proveniente de la lámpara del elemento a determinar.

En el proceso de atomización existen 4 etapas esenciales:

- Secado: permite eliminar el disolvente o diluyente.
- Mineralización o Calcinación: destruye la matriz orgánica.
- Atomización: consigue llevar los átomos al estado fundamental.
- Barrido o limpieza: elimina los restos que puedan quedar en el tubo.

✓ ***Espectrofotometría de absorción atómica con llama***

La muestra es aspirada a través de un nebulizador que genera un aerosol dentro de una cámara de premezcla. Aquí, el aerosol se mezcla con los gases combustibles y oxidantes (acetileno y aire), siendo transportado al cabezal del quemador. Una vez en el interior de la llama, se produce la combustión y atomización de la muestra.

El número de átomos del metal formado en estado fundamental, determinará la cantidad de luz absorbida. La concentración se obtendrá al comparar la absorbancia de la muestra con la obtenida de concentraciones patrón conocidas.

✓ ***Espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros***

Es un método específico para determinados elementos (como Hg, As, Sb, etc.) que permite mayor sensibilidad. Utiliza reacciones químicas para vaporizar al analito.

La técnica se basa en la reacción del analito en una solución ácida (HCl), con el borohidruro de sodio (NaBH_4) para formar hidruros gaseosos del elemento en estudio. Una vez formado el hidruro gaseoso, se transporta por una corriente de argón hacia una celda de cuarzo, alineada en el paso óptico del espectrofotómetro de absorción atómica. Para que se produzca atomización de ciertos elementos (por ejemplo, el arsénico) es necesario calentar dicha celda. Sin embargo, no precisa calentamiento para otros (por ejemplo, el mercurio). En éste último caso hablamos de Técnica de Vapor Frío, ya que el Hg es el único elemento metálico que tiene una presión de vapor considerable a temperatura ambiente.

Como la celda está en el paso óptico de la luz emitida por la lámpara de cátodo hueco, se produce una absorción de la luz por parte de los átomos del analito que será proporcional a su concentración.

RESULTADOS

Trabajamos con un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3100. Este instrumento cuenta con dos módulos independientes: un módulo de llama y un módulo de horno de grafito. Estos módulos son extraíbles, lo que permite cambiar de técnica (llama o grafito) en cualquier momento atendiendo a las necesidades particulares del laboratorio. Además, al módulo de llama se le puede acoplar el equipo de generador de hidruros con la cámara de cuarzo.

También utilizamos un espectrofotómetro Perkin Elmer AANALYST 200 (llama).

Además, el área cuenta con un digestor MILESTONE ETHOS UP SK15, ya que hay muestras que necesitan ser digeridas previamente para su análisis.

Para el análisis concreto de cada elemento empleamos diferentes técnicas analíticas:

- EAA con Horno de Grafito: Se, Pb, Ni, Al, Cr, Mn, Cd, Mg, Ag, Ba, Tl.
- EAA con Llama: Cu, Zn, Na, K, Ca, Li, Fe, Mg.
- EAA con Generador de Hidruros: - sin llama (técnica de vapor frío): Hg.
- con llama: As, Sb.

Determinación de selenio – EAA con horno de grafito

- Muestra: suero.
- Indicaciones: -Pacientes: ayuno de 8hs. Indicar medicación.
-Derivantes: enviar 2 ml de suero. Paciente con ayuno de 8hs. Indicar medicación.

- Pretratamiento de muestra: dilución para asegurar que la concentración esté dentro del rango de detección.

Colocamos la lámpara de selenio en el equipo de EAA Perkin Elmer 3100. En el programa seleccionamos el elemento que se va a cuantificar, en este caso selenio, y de este modo el equipo establece una serie de parámetros considerados óptimos como la longitud de onda, ancho de banda, energía de operación de la lámpara en mA. Además, el equipo fue configurado previamente con los programas de temperatura y tiempos que debe utilizar para atomizar cada elemento.

Buscamos la longitud de onda y la abertura correspondiente. Encendemos la lámpara, y movemos lentamente la rueda de control de longitud de onda hacia adelante o hacia atrás para obtener la mayor energía posible. Luego, dejamos calentando la lámpara unos minutos, hasta llegar al nivel de energía adecuado para comenzar a trabajar.

Antes de comenzar, alineamos la pipeta que dispensará la muestra en el horno. Su posición es importante porque de ella depende la forma en la que la gota de 20 µl de muestra cae sobre las paredes del tubo de grafito. Por lo tanto, se debe corroborar que deposite correctamente.

Primero obtenemos la curva de calibración, que se realiza una por día por cada determinación a realizar. Para ello, preparamos la solución estándar de selenio: colocamos 100 µl en un matraz de 100 ml y enrasamos con agua destilada. De esta solución hacemos una dilución 1/10 y la colocamos en una cubeta en la posición 1, el modificador de matriz en la posición de al lado, y el equipo realiza las diluciones correspondientes para obtener una curva de tres puntos. El modificador de matriz se utiliza para eliminar las interferencias causadas por la presencia de otros elementos en la muestra que pueden afectar la precisión de la medición, y así aumentar la sensibilidad, ya que el equipo utiliza muy poco volumen. Luego largamos las muestras. Realizamos diluciones al medio de la muestra de suero, y las colocamos en las cubetas. Cargamos en el programa que muestra se pone en cada posición, las diluciones correspondientes y le damos inicio.

El equipo pipetea unos 20 µl de muestra, lo deposita dentro del horno de grafito y comienza con el ciclo de calentamiento que lleva a cabo la atomización de la muestra.

La absorción de la radiación por parte de los átomos de selenio se mide y se compara con la curva de calibración para determinar la concentración de selenio en la muestra.

La lectura de la concentración del elemento se hace de forma automática y se registra en el software.

Valores de referencia: - Adultos: 4,00 – 15,00 ug/dl - Niños: 7,00 – 15,00 ug/dl

Sensibilidad analítica: 0,05 ug/dl

Determinación de cobre – EAA con llama

- Muestra: suero, orina, cerveza.
- Indicaciones:
 - Cobre en suero
 - Pacientes: ayuno de 8hs. Indicar medicación.
 - Derivantes: enviar 2 ml de suero. Paciente con ayuno de 8hs. Indicar medicación.
 - Cobre urinario
 - Pacientes: recolectar orina de 24hs en bidón provisto por el laboratorio u orina espontánea en recolector de orina estéril.
 - Derivantes: -orina 24hs: remitir 50ml de muestra con diuresis.
 - orina espontánea: remitir 50 ml de muestra.
 - Cobre en materiales varios
 - Pacientes: remitir 200 ml o gramos de muestra homogénea.
 - Derivantes: remitir 200 ml o gramos de muestra homogénea.
- Pretratamiento de muestra: dilución del suero, y en el caso de las cervezas eliminamos todo el gas por ultrasonido para impedir que ingrese ese gas en el equipo y así disminuir interferencias.

Colocamos la lámpara de cobre en el equipo de EAA Perkin Elmer AANALYST 200, éste la detecta y selecciona automáticamente la longitud de onda, la apertura y la energía de operación correspondiente, programados previamente en el software del equipo.

Esta determinación puede hacerse también en el equipo descrito anteriormente, cambiando el horno por el generador de llama.

Encendemos la llama y construimos la curva de calibración de tres puntos. Para ello, preparamos la solución estándar, y de ella realizamos diluciones seriadas al medio. Las pasamos por la llama de la menos concentrada a la más concentrada.

Una vez que tenemos la curva de calibración, preparamos las muestras. Orinas y cervezas las

pasamos enteras, en el caso del suero realizamos una dilución.

Las cargamos en el programa en orden, con su respectiva dilución, y comenzamos a pasarlas por el equipo colocando la manguera dentro del tubo para aspirar la muestra. El analito llega a la llama donde se produce la atomización, el equipo lee absorbancia y hace el cálculo de concentración de forma automática.

Para pasar de muestra en muestra, se limpia aspirando agua.

Los resultados se informan en ug/dl. En el caso de la muestra de orina se tiene en cuenta la diuresis o se informa en ug/g de creatinina.

Valores de referencia: Cobre urinario: - Orina 24hs: hasta 80 ug/24hs. - Orina espontánea: hasta 50 ug/g de creatinina. Cobre en suero: - Adultos: 75 – 145 ug/dl -Niños: 80 – 180 ug/dl
Sensibilidad analítica: 5 ug/dl

Determinación de mercurio – EAA con generador de hidruros

- Muestra: suero.
- Indicaciones:
 - Pacientes: ayuno de 8hs. Indicar medicación y posible riesgo de exposición.
 - Derivantes: enviar 2ml de suero. Paciente con ayuno de 8hs. Indicar medicación y posible riesgo de exposición.
- Pretratamiento de muestra: debe ser digerida para eliminar materia orgánica y así evitar formación de espuma cuando se estén generando los hidruros y que esas burbujas ingresen en el equipo y generen interferencias. Para ello, utilizamos el digestor MILESTONE ETHOS UP SK15, donde primero colocamos la muestra en un tubo de digestión resistente a los ácidos, añadimos ácido nítrico, lo cerramos correctamente e introducimos el tubo en el digestor que se encarga de calentar la muestra a altas temperaturas para descomponerla y disolverla en el ácido.

La técnica para la determinación de mercurio se la denomina técnica de vapor frío, utilizada con exclusividad para este elemento por la elevada volatilidad que presenta.

Utilizamos borohidruro de sodio como reductor, que lo preparamos en el momento y colocamos en el equipo.

Por otro lado, preparamos la solución estándar: 100 µl en un matraz de 100 ml, enrasando con agua destilada. De esta solución realizamos diluciones con HCl en los recipientes de reacción del equipo, y largamos las mediciones para obtener la curva de calibración.

Luego preparamos las muestras. Colocamos 1 ml de muestra previamente digerida y 9 ml de HCl en el recipiente de reacción. Enroscamos el recipiente en el equipo y dispensamos el borohidruro de sodio. El mercurio presente en la muestra es químicamente reducido y se convierte en hidruro de mercurio (HgH). El HgH generado se separa de la muestra y es arrastrado por una corriente de argón hacia la celda de cuarzo, donde se produce la absorción y se cuantifica la concentración de mercurio.

Este método es especialmente útil para muestras con concentraciones muy bajas de mercurio, ya que la generación de hidruros permite concentrar el analito y mejorar la sensibilidad del análisis.

Valores de referencia: hasta 1,00 µg/dl. Sensibilidad analítica: 0,01 µg/dl

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La EAA permite valorar el nivel de metales y no metales en una amplia variedad de muestras, como alimentos, suelos, aguas (potables, de diálisis, de pozo, de riego, de consumo de ganado), bebidas comerciales, muestras biológicas, etc.

Con respecto al análisis de muestras biológicas, esta técnica es importante para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades, como por ejemplo la enfermedad de Wilson ya que permite a los médicos monitorear los niveles de cobre en el organismo; para determinar deficiencias o excesos de minerales en el organismo, como por ejemplo de cofactores importantes como lo son el zinc y el selenio; para evaluar la exposición a determinados tóxicos como por ejemplo al mercurio en personas que trabajan en industrias donde se utiliza este metal, como la minería, o la exposición al plomo en un trabajador de estación de servicio.

Como toda técnica tiene sus ventajas y desventajas. Una de las principales ventajas de la EAA es su alta sensibilidad, es capaz de detectar concentraciones muy bajas de elementos químicos en una muestra, lo que la hace ideal para el análisis de trazas. Sus límites de detección son inferiores a la ppm. Otra ventaja es su alta selectividad, ya que permite la

determinación de elementos químicos específicos en una muestra. Puede analizar más de 60 elementos de forma directa. Además, la preparación de la muestra suele ser simple, tiene relativamente pocas interferencias y su manejo es sencillo.

La principal desventaja de esta técnica es su limitada capacidad para analizar muestras multielementales, solo puede analizar elementos de uno en uno. Además, se debe construir una curva de calibración por cada determinación a realizar en el día. Otra desventaja es que solo pueden analizarse las muestras cuando están en disolución. Por lo tanto, las muestras sólidas requieren de digestión para su análisis, lo que puede ser laborioso y consumir tiempo. Además, los instrumentos requieren mantenimiento regular y calibración para asegurar resultados precisos, los equipos y sus componentes suelen ser costosos y la técnica requiere de gases específicos como acetileno, lo que representa un costo y riesgo adicional.

Respecto a las diferentes metodologías, en primer lugar, la EAA con llama es uno de los métodos más comunes, es rápido y sencillo. Una de sus desventajas es que requiere mayor cantidad de muestra en el orden del ml.

Por otro lado, la EAA con horno de grafito aporta mayor sensibilidad que la EAA con llama y por lo tanto permite la determinación de concentraciones más bajas de elementos químicos. Además, requiere muy poca cantidad de muestra en el orden del μL . Sin embargo, es un método lento debido a los ciclos de calentamiento-enfriamiento.

Finalmente, la EAA con generador de hidruros es el método más sensible de los tres, permite la detección de concentraciones extremadamente bajas. Comparada con el horno de grafito, es 5 o 10 veces más sensible. Algunas de sus desventajas es la formación de espumas, y por lo tanto la necesidad de pretratamiento de la muestra. Es un sistema más complejo, involucra reacciones en línea, por lo que el operador debe permanecer atento en el equipo para dispensar el borohidruro de sodio y realizar lectura cada determinado tiempo. Otra desventaja es la aplicación a un número limitado de analitos.

En el laboratorio IBC hay determinaciones que se podrían hacer por esta técnica, pero las hacen por otra, como es el caso del zinc y del litio que las realizan por método colorimétrico en Cobas 6000 y 8000. El zinc por la alta demanda, ya que se realizan muchas determinaciones por semana. Y el litio se automatizó no solo por la alta demanda, sino también porque es una determinación de urgencia en pacientes de salud mental que están medicados con este metal. Es una medicación con un rango terapéutico muy estrecho, por lo

que un pequeño exceso puede llevar a la toxicidad y poner en riesgo la vida del paciente. Por lo tanto, se monitorea regularmente para tener un control de la dosis.

También podríamos pensar en determinaciones que se hacen por EAA y se podrían hacer por otra técnica, como el dosaje de sodio y potasio en agua. Se podría realizar en Cobas 8000, pero el equipo debería hacer muchas diluciones para que entre en la curva, lo que disminuye drásticamente su sensibilidad, por lo que se prefiere utilizar EAA.

Como último comentario, en relación a las determinaciones descriptas anteriormente en resultados, la EAA es el gold standard debido a su alta sensibilidad.

PERSPECTIVAS

La EAA es una técnica altamente versátil que permite determinar la concentración de una gran variedad de elementos químicos en una amplia gama de matrices.

El área de absorción atómica del laboratorio IBC está experimentando una expansión, evidenciada por un notable incremento en la cantidad y variedad de muestras. Este crecimiento sugiere la necesidad de contemplar futuros proyectos orientados a la modernización del equipo y la automatización de los procesos. La integración de instrumentos de última generación permitirá no solo mejorar la precisión de las mediciones, sino también aumentar la capacidad para analizar una gama más extensa de elementos, además de optimizar los tiempos de análisis.

Es interesante mencionar que en estudios recientes se han determinado metales pesados en yerba mate, en leche y pelos de vacas lecheras. Por ello, sería relevante incorporar estas determinaciones en dichas matrices, destacando la importancia de estos análisis para la salud y la seguridad alimentaria.

En consecuencia, la absorción atómica juega un papel fundamental tanto en el ámbito clínico como en la evaluación y cumplimiento de normativas y legislaciones alimenticias, laborales y ambientales.

Finalmente, resulta significativo destacar que, como bioquímicos, es importante familiarizarnos con los fundamentos de la EAA, las posibles determinaciones y matrices a analizar, así como conocer los laboratorios que disponen de esta técnica en la ciudad de Rosario.

BIBLIOGRAFÍA

- Castellanos Cuéllar, I.C., Velandia Cabra, J.R., González Curbelo, M.A., Varela Martínez, D.A., Ramírez Valencia, E. (2018). *Aplicaciones y generalidades de un espectrofotómetro de absorción atómica AA-700 de Shimadzu*. Recuperado el 20 de mayo de 2024, de https://repository.universidadean.edu.co/bitstream/handle/10882/12227/AplicGeneralidades_AA700.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Douglas, A., Holler, F.J., Stanley, R. (2008). *Principios de análisis instrumental*. (6ª ed.)
- Itxaso García, A. (2018). *Puesta en marcha de un equipo de absorción atómica con cámara de grafito para la determinación de V y Ni en productos derivados del petróleo*. Recuperado el 20 de mayo de 2024, de https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/30540/TFG_Garcia_Arberas_Itxaso.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Martínez Guijarro, M.R. *Análisis instrumental: Espectrometría de absorción atómica (EAA)*. Recuperado el 20 de mayo de 2024, de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/138418/Mart%c3%adnez%20-%20An%c3%a1lisis%20Instrumental.%20Espectrometr%c3%ada%20de%20Absorci%c3%b3n%20At%c3%b3mica%20%28EAA%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Razmilic, B. *Espectroscopia de absorción atómica*. Recuperado el 20 de mayo de 2024, de <https://www.fao.org/4/ab482s/AB482S04.htm>
- Villanueva Cañadas, E., Gisbert Calabuig, J.A. (2004). *Medicina Legal y Toxicología*. (6ª ed.). Barcelona: Masson.

TF03

Alumna: Castro, María Belén; Calgaro, Mariana; Morri, Dolores

Tutor Académico: Sciarratta, Patricia

Lugar de realización: Laboratorio Central - Hospital Provincial del Centenario

Póster



LCR: DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO EN MENINGITIS TUBERCULOSA



Calgaro, Mariana¹; Castro, María Belén¹; Morri, Dolores¹; Pavón, Nancy²; De Vuono, Daniel^{2,3}; Sciarratta, Patricia^{1,2}.
¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - UNR. ²Laboratorio Central - Hospital Provincial del Centenario - UNR. ³Director Técnico.

CASO CLÍNICO

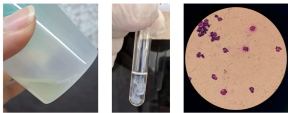
Paciente masculino de 25 años de edad llega al efector con astenia, pérdida de peso, sudoraciones nocturnas, cefaleas y cervicalgia intensa.

Luego de evaluarlo exhaustivamente, se le realiza una punción lumbar y se extrae LCR para su análisis:

Citofisicoquímico

- Líquido xantocrómico sin cambios post centrifugado
- Glucorraquia: 0,19 g/L
- Proteinorraquia: 1,54 g/L
- Reacción de Pandy: 2+
- Elementos: 36 totales. MMN 60% y PMN 40%.

Biología Molecular: GeneXpert-MTB detectable.



DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS MENÍNGEA

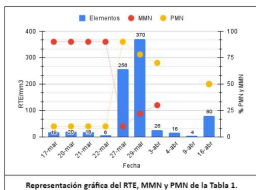
Abandono del tratamiento antibiótico en reiteradas ocasiones

Complicación extrapulmonar de la tuberculosis: Mal de Pott y progresión del cuadro meníngeo

Internación en UTI con ARM y válvula de derivación

Fecha	Aspecto	Glucorraquia (g/L)	Proteinorraquia (g/L)	Reacción de Pandy	Acidorraquia (mmol/L)	RTe (mm ²)	MMN (%)	PMN (%)	Raíces bacteriológicas
17/3	LIG OPA	0,47	3,68	3+	42,54	19	90	10	Negativo
20/3	LIG OPA XAN	0,47	3,32	4+	-	20	90	10	-
21/3	LIMP XAN	0,31	2,86	4+	-	18	90	10	-
22/3	LIG OPA	0,30	1,90	2+	72,72	6	90	10	Negativo
27/3	OPA	0,48	2,29	4+	52,26	256	10	90	Negativo
29/3	OPA	0,23	2,60	4+	-	370	22	78	Negativo
3/4	OPA ROJIZO	0,21	1,41	2+	58,26	26	30	70	Negativo
4/4	LIMP LIG XAN	0,33	1,21	2+	40,74	16	-	-	Negativo
9/4	LIMP LIG XAN	0,40	0,95	2+	56,51	4	-	-	Microbiota pos.
16/4	LIG OPA XAN	0,31	2,18	4+	61,23	80	50	50	<i>M. tuberculosis</i>

Tabla: Citofisicoquímicos y análisis bacteriológicos de los LCR realizados durante la internación en UTI. RTe: recuento total de elementos. MMN: mononucleares. PMN: polinucleares. LIMP: líquido, LIG: ligeramente, OPA: opalescente, XAN: xantocrómico



El análisis de los diferentes LCR demuestran la progresión del compromiso meníngeo del paciente (aumento de los elementos, viraje del predominio a polinormocitares, hiperproteinorraquia y daño en la barrera hematoencefálica que se puede evidenciar con la detección cualitativa de globulinas en la Reacción de Pandy).

El paciente fallece debido a complicaciones de su cuadro clínico con infecciones intrahospitalarias.

Como conclusión del caso clínico y en particular a la experiencia obtenida en la PPO, con este trabajo buscamos resaltar la importancia del análisis de los líquidos de punción, especialmente del LCR, a la hora de realizar un diagnóstico y seguimiento de una meningitis.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29313>

Monografía



Universidad
Nacional
de Rosario

TUBERCULOSIS EXTRAPULMONAR: UN CASO CLÍNICO

AUTORES

CALGARO, MARIANA

CASTRO, MARÍA BELÉN

MORRI, DOLORES

TUTORA

SCIARRATTA, PATRICIA

INSTITUCIÓN

LABORATORIO CENTRAL - FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y
FARMACÉUTICAS - HOSPITAL PROVINCIAL DEL CENTENARIO

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 25 años de edad ingresa por primera vez al Hospital Provincial del Centenario el 5 de Septiembre del 2023 por consulta de astenia de 2 meses de evolución y pérdida de 10 Kg de peso, sudoraciones nocturnas, cefaleas y cervicalgia intensa, sin síntomas respiratorios. Además, refiere presentar agrandamiento del testículo derecho sin dolor. Posterior a la consulta, el paciente quedó internado para estudios y finalmente es diagnosticado con tuberculosis miliar pulmonar y meníngea. Durante ésta internación, fue tratado con antibacilares pero presenta hepatotoxicidad, por tal motivo el equipo médico modifica el tratamiento a antibióticos de segunda línea, con mejoría clínica. El 13 de Octubre, el paciente recibe el alta hospitalaria, debiendo continuar con el tratamiento por 12 meses.

El 18 de Noviembre, reingresa al efector por oficio judicial para deshabituación de cocaína, donde refiere abandono de tratamiento antibacilares de hace aproximadamente unos 10 días, por lo tanto reinicia el tratamiento. El paciente se fuga.

Reingresa al Hospital el 21 de Diciembre, el motivo de consulta es dolor en miembro inferior que le dificulta la marcha, tumoración, dolor testicular derecho y pérdida de 10 Kg de peso. Además, alude al abandono del tratamiento antibacilar desde hace unos 15 días. El paciente queda internado para su evaluación y se lo diagnostica con Mal de Pott. El mismo es tratado y recibe el alta hospitalaria luego de 41 días de internación (30 de enero del 2024), con tratamiento antibacilar supervisado en Centro de Salud.

A los 10 días posterior al alta, el 10 de Febrero, reingresa al efector con internación en Unidad de Cuidados Intermedios (UCIM) por sospecha de reactivación de tuberculosis meníngea, dado que presentaba alteraciones en la conducta, vómitos sin náuseas y alteración en la marcha. Se le realizan todos los estudios correspondientes y después de 9 días en UCIM, se lo pasa a Sala General de Clínica Médica y el 23 de Febrero se lo da de alta hospitalaria por presentar mejoría clínica, con pautas de alarma y control externo. A su vez, debe continuar con el tratamiento antibacilares supervisado por el Centro de Salud.

El 17 de Marzo, ingresa por guardia con un cuadro de 24 hs de evolución caracterizado por alteraciones conductuales, desorientación y episodio de excitación psicomotriz. Se constata que no se presentó a controles programados. El paciente queda internado en el servicio de Clínica Médica para realizarle estudios. Por presentar deterioro del sensorio, el 19 de Marzo se lo traslada a Unidad Terapia Intensiva (UTI) requiriendo intubación con asistencia respiratoria mecánica (ARM). También durante la internación requirió la colocación de una

válvula de derivación. A su enfermedad de base se le agregan infecciones intrahospitalarias por lo que evoluciona desfavorablemente y después de 32 días de internación, fallece.

MARCO TEÓRICO

El agente causal de la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar es el *Mycobacterium tuberculosis* (TBC), un bacilo intracelular ácido-alcohol resistente (BAAR), aerobio, no productor de esporas. Es un microorganismo muy resistente, tiene ciertas características especiales en su desarrollo que le confieren grandes diferencias con las bacterias convencionales. Así, su lenta capacidad de división y la dependencia en su crecimiento de las condiciones locales donde se desarrolla (como la presencia o ausencia de oxígeno y la dependencia del pH del medio) pueden ocasionar un estado de letargo.

A pesar de que el pulmón es el órgano diana por excelencia de la TBC, cualquier otro órgano y sistema puede verse afectado. Se admite que desde este foco primario pulmonar se puede producir una diseminación, ya sea por contigüidad, por vía linfática o por vía hematógena. Las infecciones extrapulmonares representan un 10-20% del total de pacientes infectados.

La TBC miliar aparece cuando una lesión tuberculosa erosiona un vaso sanguíneo y disemina millones de bacilos tuberculosos a través de la corriente sanguínea hacia todo el organismo. Puede producirse una diseminación masiva sin control durante la infección primaria o después de la reactivación de un foco latente.

La TBC urogenital suele diseminarse a la vejiga y, en los hombres, a la próstata, las vesículas seminales o el epidídimo, lo que produce un tumor escrotal expansivo. La infección también puede extenderse al espacio perinéfrico y por debajo del músculo psoas, en ocasiones con producción de un absceso sobre la cara anterior del muslo.

Dentro de la TBC ósea y muscular se encuentra el Mal de Pott que es una infección vertebral que comienza en el cuerpo vertebral y con frecuencia se disemina a las vértebras adyacentes, donde se produce un estrechamiento del disco intervertebral. La progresión de la enfermedad es lenta e insidiosa. Las características clínicas son muy variadas e incluyen dolor local, espasmos musculares, abscesos fríos y deformidad espinal prominente. Los déficits neurológicos dependen del nivel comprometido.

La meningitis por TBC es la forma extrapulmonar más letal de la tuberculosis activa, comprende el 1-2% de los casos con una tasa del 50% de mortalidad o discapacidad grave. Es la única forma de tuberculosis que se previene en la infancia mediante la vacunación con BCG. La invasión al sistema nervioso central (SNC) se establece por dos rutas: la primera

consiste en la interacción de los bacilos con factores extracelulares en el endotelio y facilita la migración a través de la barrera hematoencefálica (BHE); y la segunda ruta es un mecanismo conocido como “caballo de Troya”, mediante el cual la infección ingresa por medio de los fagocitos y alcanza el SNC. Como producto de la respuesta inflamatoria del huésped se destaca una proteína denominada factor de crecimiento endotelial vascular, la cual es un potente inductor de angiogénesis y aumento de la permeabilidad vascular, que junto a otros elementos proinflamatorios desencadena edema cerebral. Las arterias y nervios craneales son envueltos con exudado creando un "cuello de botella" respecto al flujo del líquido cefalorraquídeo (LCR) a nivel de la apertura tentorial, dando lugar a hidrocefalia. El conjunto de fenómenos patogénicos (vasculitis, edema cerebral e hidrocefalia) son responsables de los defectos motores, sensoriales y del intelecto que constituyen los signos de esta enfermedad.

El diagnóstico de TBC se realiza con imágenes y pruebas de laboratorio. Las imágenes en el diagnóstico suelen ser tomografía axial computarizada (TAC) y Resonancia Magnética (RM), pues las imágenes radiológicas que produce la TBC pueden ser producidas por otras patologías respiratorias y enfermedades sistémicas. Para el análisis de laboratorio, el tipo de muestra a analizar va a depender del sistema u órgano afectado, tal es así que para el diagnóstico de TBC pulmonar se prefiere una muestra de esputo, BAL, biopsias, entre otras; y para el caso de TBC extrapulmonar del tipo meníngea el estudio del LCR es la muestra de elección, los estudios a realizar con dicha muestra suelen ser:

- ❖ Baciloscopia: búsqueda en visión microscópica directa de bacilos ácido alcohol resistentes.
- ❖ Cultivos: el método clásico de cultivo en medio sólido de Lowenstein-Jensen. Requiere entre tres y ocho semanas para el crecimiento, lo cual lo invalida como herramienta práctica para el manejo temprano de estos pacientes.
- ❖ Biología molecular: existen diversas secuencias de ADN específicas de TBC que pueden ser amplificadas. GeneXpert MTB/RIF es una prueba de PCR rápida y automatizada que puede identificar simultáneamente ADN de TBC y detectar resistencia a la rifampicina en tan solo 2 horas. Es más sensible que la microscopía y tan sensible como el cultivo.
- ❖ Citofisicoquímico: en este análisis se evalúa el aspecto macroscópico pre y post centrifugado del LCR, también se determina glucorraquia, proteinorraquia, reacción de Pandy, ácido láctico y recuento total de elementos.
- ❖ Otras: pruebas diagnósticas que detectan antígenos y anticuerpos para M. tuberculosis.

El tratamiento antibacilar de las personas con TBC es un componente principal para el control de esta enfermedad. Es fundamental reconocer que el seguimiento del tratamiento no solo es crucial para la salud individual del paciente, sino también para la prevención de la TBC a nivel comunitario. Aunque la terapia farmacológica actual es efectiva, en casos especiales, como cuando los tratamientos iniciales se interrumpen o fallan, la emergencia de bacilos resistentes a los medicamentos antituberculosos requiere tratamientos más prolongados que implican el uso de fármacos con mayor toxicidad y costos más elevados.

Según el boletín N°7-2024 del Ministerio de Salud de la República Argentina, durante el año 2023 se registró una tasa de notificación por TBC de 32,0 por 100.000 habitantes para el total de casos, la cual fue 10,3 % más alta que la del 2022. Se reportaron 14.914 casos, de los cuales 13.905 (93,2%) fueron casos incidentes (casos nuevos, recaídas o sin información de clasificación al inicio del tratamiento) y 1.009 (6,8%) casos antes tratados (reingresos de pérdida de seguimiento, fracasos, traslados y otros). Dentro de los casos incidentes, los casos nuevos aportaron el 78,6% y dentro de los casos no nuevos, el reingreso de pérdida de seguimiento fue la clasificación más frecuente, con el 52,5% de los mismos.

En particular, la provincia de Santa Fe en 2023 registró una tasa de 22,3 por 100.000 habitantes para el total de casos. Se reportaron un total de 808 casos, de los cuales 792 fueron casos incidentes (98%) y el restante casos antes tratados.

RESULTADOS RELEVANTES PARA EL CASO

PRIMERA INTERNACIÓN 05/09/23 - 13/10/23

05/09/23

Ecografía testicular: Testículo derecho: aumentado de tamaño con respecto a izquierdo, con incremento de vascularización y parénquima heterogéneo a expensas de un área hipoecogénica de contornos irregulares. Se observan múltiples imágenes redondeadas hipoecogénicas que se dispersan en todo el tejido testicular. Epidídimo aumentado de espesor. Testículo izquierdo: sin particularidades (S.P.).

TAC de tórax: Micronódulos menores a 3 mm, distribución aleatoria; compromete a ambos campos pulmonares a predominio biapical, donde adquieren patrón de árbol en brote como así también en segmento superior del lóbulo inferior izquierdo. Múltiples adenomegalias.

Laboratorio: Serología: VDRL/VIH/VHB/VHC: no reactivo. Endocrinología: α -fetoproteína: 0,8 ng/mL; hCG < 1 mUI/mL. Hematología, química, urología, medio interno: S.P.

11/09/23

TAC de cráneo: Formación focal calcificada en pared del asta anterior del ventrículo lateral.

Laboratorio: Citofisicoquímico del LCR: líquido ligeramente xantocrómico sin cambios post centrifugado; glucorraquia: 0,19 g/L; proteinorraquia: 1,54 g/L; R. de Pandy: 2+; elementos: 36 totales - MMN 60% y PMN 40%. Serología: VDRL en LCR: no reactivo. Micología: tinta china del LCR: negativo. Biología molecular: GeneXpert-MTB en BAL: negativo; GeneXpert-MTB en LCR: detectable.

23/09/23

Laboratorio: Química: Glicemia 138 mg/dL; BT: 0,39 mg/dL / BD: 0,23 mg/dL / BI: 0,16 mg/dL; GOT 35 UI/L; GPT: 147 UI/L; FAL: 86 UI/L; GGT: 169 UI/L; Amilasa: 156 UI/L. Ionograma, creatinina y urea valores normales. Hematología: S.P.

26/09/23

Laboratorio: Química: Glic 76 mg/dL; GOT 17 UI/L; GPT: 78 UI/L; FAL: 87 UI/L; GGT: 150 UI/L

13/10/23

Laboratorio: Química: GOT 12 UI/L; GPT: 19 UI/L; FAL: 71 UI/L; GGT: 94 UI/L; Amilasa: 69 UI/L

TERCERA INTERNACIÓN 21/12/23 - 30/01/24

21/12/23

TAC de abdomen y pelvis: Lesión osteolítica, hipodensa, con múltiples imágenes hiperdensas e irregulares centrales, de márgenes escleróticos que compromete hemicuerpo lateral derecho de L1. En íntimo contacto con dicha lesión, en el espesor del músculo psoas derecho, se observa una colección hipodensa, lobulada, con septos gruesos y calcificaciones internas (no visualizada en estudio previo). Se encuentran en relación con el proceso inflamatorio-infeccioso agudo. Se observa otra lesión hipodensa de contornos irregulares, con márgenes escleróticos incompletos que compromete la mitad inferior del cuerpo vertebral y la lámina inferior de D12.

Laboratorio: Química: Glicemia: 92 mg/dL; BT: 0,35 mg/dL; GOT 24 UI/L; GPT: 65 UI/L; FAL: 139 UI/L; GGT: 129 UI/L, PCR: 3,2 mg/L. Hematología: VES: 29 mm/1h, resto S.P. Hemocultivos: negativos

26/12/23

Laboratorio: Bacteriología: muestra: colección punción vertebral. Cultivo: negativo. Tinción Ziehl Neelsen: 5 BAAR en 200 campos observados.

28/12/23

RMI de columna: Se evidencian cambios inflamatorios a nivel de D12-L1. Se observa

captación heterogénea de disco intervertebral y de los cuerpos vertebrales mencionados con una colección intrasomática a nivel de L1. Se asocia a engrosamiento y refuerzo de tejidos blandos pre y paravertebrales a predominio derecho. Los hallazgos descritos se encuentran en relación con espondilodiscitis D12-L1.

12/01/24

TAC de abdomen y pelvis: Continúa observándose lesión osteolítica. En región escrotal derecha, existe contenido hipodenso y márgenes netos que realzan contraste EV. No se encontraba en TAC previa. Existen múltiples lesiones hipodensas, lineales e irregulares, algunas nodulares, de amplia distribución, con áreas de disrupción cortical, que comprometen al alerón sacro, hueso ilíaco y rama iliopubiana.

15/01/24

Eco Doppler testicular: Testículo derecho: parénquima heterogéneo en forma difusa, observándose múltiples imágenes hiperecogénicas de pequeño tamaño. Epidídimo aumentado de tamaño, hipoecogénico, heterogéneo con aumento de la vascularización compatible con orquiepididimitis. No se observa hidrocele. Túnicas testiculares de espesor normal. Testículo izquierdo: S.P.

22/01/24

TAC de abdomen y pelvis: Se evidencia en el espesor de músculo piriforme derecho, otra colección hipodensa de paredes parcialmente definidas que realzan el contraste EV, esta no lograba identificarse en el estudio previo. Persiste la colección escrotal derecha. Continúan visualizándose múltiples lesiones hipodensas irregulares, asociadas a áreas de disrupción cortical, que comprometen al hueso ilíaco derecho, rama iliopubiana y sacro ya descritas.

Laboratorio: Química: Glicemia: 107 mg/dL; BT: 0,29 mg/dL; GOT 40 UI/L; GPT: 108 UI/L; FAL: 104 UI/L; GGT: 218 UI/L; PCR: 0,7 mg/L. Hematología: S.P.

CUARTA INTERNACIÓN 10/02/24 - 23/02/24

10/02/24

TAC de cráneo: Los hallazgos de este estudio se interpretan como proceso de etiología inflamatoria-infecciosa, con compromiso meníngeo y signos de complicación (hidrocefalia).

15/02/24

Laboratorio: Serología: HIV y VDRL no reactivos.

RMI de cráneo: Los hallazgos se encuentran vinculados a proceso de etiología inflamatoria-infecciosa de origen tuberculoso con compromiso meníngeo (tuberculomas) y

signos de complicación (hidrocefalia)

INGRESO A GUARDIA 17/03/24

Laboratorio: Química: Glicemia: 134 mg/dL; PCR: 14,5 mg/L, resto S.P. Hematología: S.P.

TAC de cráneo: diferencia con la TAC anterior: agudización de la hidrocefalia.

QUINTA INTERNACIÓN (UTI) 19/03/24 - 20/04/24

19/03/24

Laboratorio: Química: Glicemia: 141 mg/dL. Resto S.P. Hematología: GB: 10.500 cel/mm³. Resto sin particularidades EAB: pH: 7,41; pCO₂: 30 mmHg; pO₂: 101 mmHg; EB: -4,62 mmol/L; HCO₃ st: 20 mmol/L; HCO₃ real: 19 mmol/L; Ácido láctico: 8 mg/dL.

04/04/24

Laboratorio: Química: Uremia: 37 mg/dL; Creatininemia: 0,70 mg/dL; resto S.P. Hematología: Hb: 10,8 g/dL; Hto: 32%; resto S.P.

09/04/24

Laboratorio: Química: Uremia: 109 mg/dL; Creatininemia: 1,14 mg/dL; GOT: 136 UI/L; GPT: 149 UI/L; FAL: 128 UI/L; GGT: 314 UI/L. Hematología: GB: 18.220 cel/mm³; resto S.P.

10/04/24

Laboratorio: Química: Uremia: 141 mg/dL; Creatininemia: 1 mg/dL. Resto: S/P. Hematología: GB: 36.000 cel/mm³; PLT: 713.000 cel/mm³. Resto: S/P. Bacteriología: hemocultivos: 1/3 *Staphilococcus haemolyticus*.

13/04/24

Laboratorio: Química: Uremia: 111 mg/dL; Creatininemia: 0,9 mg/dL; Na⁺: 147; K⁺: 4,57; Cl⁻: 118; GOT: 48 UI/L; GPT: 50 UI/L. Hematología: Hb: 9,4 g/dL; Hto: 29%; GB: 21.580 cel/mm³. EAB: pH 7,35; pCO₂: 35,4; pO₂: 94,2; EB -5,4; HCO₃st 20; HCO₃r 19,3; Ác.Láctico: 2,06 mg/dL

14/04/24

Laboratorio: Química: Uremia: 65 mg/dL; Creatininemia: 0,70 mg/dL. Hematología: Hb: 9 g/dL; Hto: 28%; GB: 14.680 cel/mm³; PLT: 489.000 cel/mm³. Bacteriología: muestra: miniBAL, *P. aeruginosa* y *A. baumannii* positivos.

16/04/24

Laboratorio: Química: K⁺: 3,14 mEq; Hematología: Hb: 9,2 g/dL; Hto: 26%.

18/04/24

Laboratorio: Química: Uremia: 16 mg/dL; Creatinina: 0,99 mg/dL; GOT: 28 UI/L; GPT: 53 UI/L; FAL: 103 UI/L; GGT: 269 UI/L. Hematología: Hb: 9,9 g/dL; Hto: 29; PLT: 344.000 cel/mm³

Fecha	Aspecto	Glucorraquia (g/L)	Proteorraquia (g/L)	R. de Pandy	Ácido láctico (mg/dL)	RTE/mm ³	MMN (%)	PMN (%)	Rescates bacteriológicos
17/3	LIG OPA	0,47	3,68	3+	42,54	19	90	10	Negativo
20/3	LIG OPA XAN	0,47	3,32	4+	-	20	90	10	-
21/3	LIMP XAN	0,31	2,86	4+	-	18	90	10	-
22/3	LIG OPA	0,30	1,90	2+	72,72	6	90	10	Negativo
27/3	OPA	0,48	2,29	4+	52,26	256	10	90	Negativo
29/3	OPA	0,23	2,60	4+	-	370	22	78	Negativo
3/4	OPA ROJIZO	0,21	1,41	2+	58,26	26	30	70	Negativo
4/4	LIMP LIG XAN	0,53	1,21	2+	40,74	16	-	-	Negativo
9/4	LIMP LIG XAN	0,42	0,95	2+	56,51	4	-	-	Microbiota piel
16/4	LIG OPA XAN	0,31	2,18	4+	61,23	80	50	50	<i>P. aeruginosa</i>

Tabla: Citofisicoquímicos y análisis bacteriológicos de los LCR realizados durante la quinta internación. RTE: recuento total de elementos. MMN: mononucleares. PMN: polimorfonucleares. LIMP: límpido. LIG: ligeramente. OPA: opalescente. XAN: xantocrómico

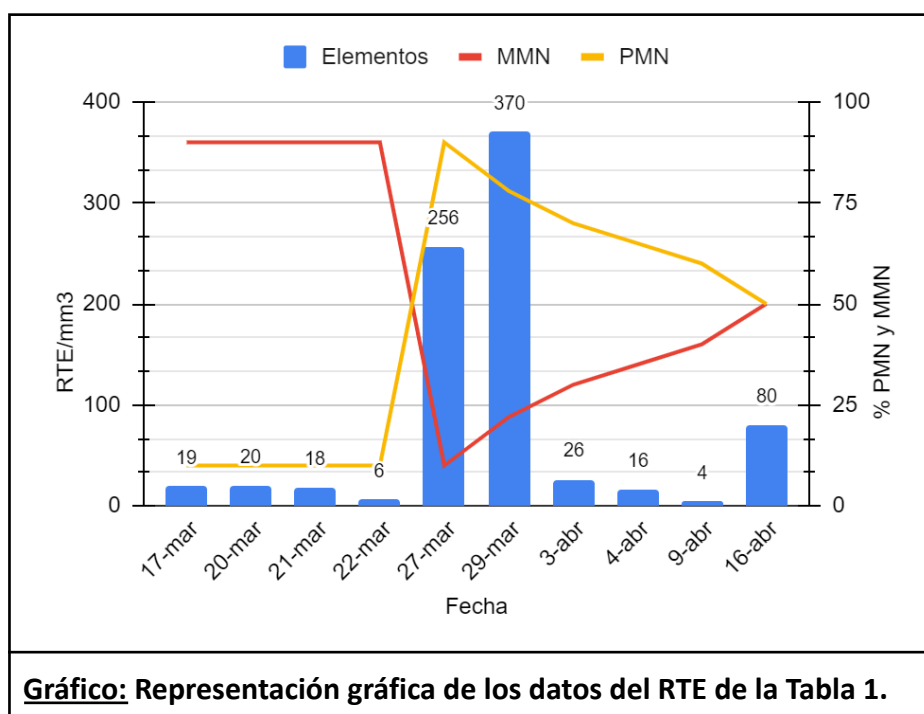


Gráfico: Representación gráfica de los datos del RTE de la Tabla 1.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Analizando de forma integral el caso clínico, en la primera internación se destaca como se van descartando las primeras sospechas y como se arriba al diagnóstico del paciente. Entonces con la ecografía testicular se instauró la sospecha de cáncer, pero con el dosaje de hCG y α FP pudieron descartar que la anomalía encontrada sea producto del mismo. También

se excluyeron algunas enfermedades de tipo infecciosa que comprometen al sistema inmune al obtener resultados no reactivos con las pruebas serológicas. A su vez, la TAC de tórax arrojó resultados indicando que el cuadro se relacionaba con un proceso infeccioso y posteriormente la TAC de cráneo indica que se halla una formación calcificada por lo que se decide analizar un LCR, con el mismo se concluye que presenta una infección debido a la hipoglucorraquia, hiperproteíorraquia y al recuento de elementos que en su mayoría eran mononucleares. La misma muestra se distribuye por diferentes áreas de laboratorios como Micología, Serología y Bacteriología, donde se pudo descartar que la infección sea por el Complejo *Cryptococcus* spp. ya que el directo con tinta china fue negativo, también se eliminó la posibilidad de que sea neurosífilis por obtener una VDRL del LCR no reactivo y finalmente confirman la etiología de la infección con un GeneXpert-MTB/RIF detectable.

El paciente comienza el tratamiento y se empieza a observar aumento de las transaminasas por hepatotoxicidad asociada a los antibióticos y se nota como al rotar la medicación el laboratorio del perfil hepático comienza a normalizarse gradualmente hasta el día del alta.

De la segunda internación, es de destacar la falta de adherencia al tratamiento antibacilar.

En la tercera internación, nuevamente llama la atención que el paciente manifiesta abandono del tratamiento y en el motivo de consulta presenta agudización de su TBC urogenital (lo cual se confirma con el Eco Doppler) y signos de complicaciones de otro tipo de TBC extrapulmonar, la ósea. Se le realizó una TAC de abdomen y pelvis y una RMI de columna, dichas imágenes arrojan en conjunto espondilodiscitis (Mal de Pott), además, el hallazgo de Bacteriología de la colección vertebral refuerza el diagnóstico. La enfermedad de base del paciente evoluciona desfavorablemente.

En la cuarta internación debido a los signos que presentaba el paciente se instala la sospecha de reactivación de TBC meníngea y la misma se confirma con la TAC y RMI de cráneo, las cuales indican hidrocefalia, lo que se interpreta como una complicación de su cuadro. Cabe destacar que se le repitió la determinación de VIH y VDRL y nuevamente fueron no reactivos.

En la última internación, al examinar conjuntamente los LCR, se destaca el compromiso meníngeo que presenta el paciente. Se puede observar en el gráfico, como en un momento dado, los elementos aumentan significativamente produciendo un viraje con predominio de PMN, lo cual nos da la sospecha de que podría ser debido a la válvula de derivación que se le realizó para disminuir la presión generada por la hiperproteíorraquia, ya que descartamos que sea producto de una coinfección bacteriana dado que el rescate bacteriológico de ese

LCR fue negativo; en correlación con el aumento de elementos en la misma fecha, se observa una disminución marcada de la glucorraquia, causada tanto por el consumo de los agentes etiológicos como por los PMN (Tabla). También cabe destacar el daño en la barrera hematoencefálica del paciente, lo cual se puede evidenciar con la detección cualitativa de globulinas, por la Reacción de Pandy (Tabla). Finalizando con el análisis, es relevante resaltar que en el último LCR se observa nuevamente un aumento de los elementos, debido a una coinfección con *P. aeruginosa*, complicando su cuadro (Gráfico).

Para finalizar la discusión es importante señalar que durante esta internación, se pudo recuperar de un hemocultivo a *S. haemolyticus* y también, dado que el paciente estaba con ARM, de una muestra de miniBAL se obtuvo crecimiento de *P. aeruginosa* y *A. baumannii*, lo cual se interpreta como una infección intrahospitalaria. Todas estas coinfecciones son las responsables de los valores de las leucocitosis y la hiperplaquetosis que presenta el paciente.

PERSPECTIVAS

Consideramos que al paciente se le brindó un servicio completo en cada internación. Hubo un trabajo interdisciplinario adecuado, los servicios del hospital que se involucraron fueron la Guardia Médica, Clínica Médica, UCIM, UTI, diagnósticos por imágenes, Laboratorio Central y SIEBE (Bacteriología y Micología). Además, en interconsultas se involucraron los Servicios de Neumonología y Neurología. A su vez, se obró conjuntamente con el Centro de Salud correspondiente, para intentar asegurar la adherencia al tratamiento.

Para que la recuperación sea exitosa, es necesaria la acción en conjunto de los agentes de salud y el cumplimiento terapéutico por parte del paciente, pero tal como se puede contemplar de forma recurrente en el caso, esto último no se obtuvo, llevando a empeorar su estado de salud de forma irreversible.

La falta de adherencia al tratamiento en esta patología es multicausal, en donde se entrelazan diferentes determinantes sociales en salud tales como: escolaridad, vivienda, acceso a alimentos saludables, aire y agua de calidad y servicios de atención en salud. Por lo tanto los determinantes en salud constituyen una serie de factores personales, sociales, económicos y ambientales que determinan el estado de salud de las personas que forman parte de la población.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer el aporte destacado de la coformadora Bioq. Nancy Pavón para el desarrollo de este caso clínico.

Agradecemos también al área de Bacteriología del SIEBE por proporcionarnos información sobre el paciente, al Servicio de Neumología por acceder desinteresadamente a una entrevista, al Servicio de Unidad de Terapia Intensiva por permitirnos acceder a su parte de la historia clínica del paciente y finalmente al Director del Laboratorio Central, Bioq. Daniel de Vuono, por facilitarnos la obtención de la historia clínica completa.

BIBLIOGRAFÍA

- Arteaga Bonilla, R., Arteaga Michel, R., & Carvajal Valle, C. (2004). Meningitis tuberculosa. Revista de la Sociedad boliviana de pediatría, 43(3), 164–170.
- Bernal O, López R, Montoro E, Avedillo P, Westby K, Ghidinelli M. Determinantes sociales y meta de tuberculosis en los Objetivos de Desarrollo Sostenible en las Américas. Rev Panam Salud Publica. 2020; 44:e153. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.153>
- Lasso B, M. (2011). Meningitis tuberculosa: claves para su diagnóstico y propuestas terapéuticas. Revista Chilena de Infectología: Organo Oficial de La Sociedad Chilena de Infectología, 28(3), 238–247. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182011000300007>
- Ministerio de Salud de la Nación. Coordinación de Tuberculosis y Lepra. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Dr. Emilio Coni. (2024). Boletín N°7 Tuberculosis y lepra en la Argentina.
- Nardell, E. A. Tuberculosis extrapulmonar. Manual MSD versión para profesionales. Recuperado de <https://www.msdmanuals.com/es-ar/professional/enfermedades>
- Reguera, R. M. (2014). Interpretación del líquido cefalorraquídeo. Anales de Pediatría Continuada, 12(1), 30–33. [https://doi.org/10.1016/s1696-2818\(14\)70164-7](https://doi.org/10.1016/s1696-2818(14)70164-7)

Alumna: Masiá Rojkin, María Paz; Herrera, Camila
Tutor Académico: Rubies, Georgina
Lugar de realización: Hospital de Niños Zona Norte

Póster



PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA IATROGÉNICA



Camila, Herrera; María Paz, Masiá Rojkin; Georgina Rubies; Mirta Tartabini
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas – UNR
Hospital de Niños Zona Norte “Dr. Roberto M. Carra”

Paciente femenina se presenta con **metrorragias**, **petequias** y **hematomas** en miembros inferiores cuyo diagnóstico sugestivo es síndrome anémico con marcada **plaquetopenia** y sospecha de **púrpura trombocitopénica autoinmune**. Se realiza **transfusión** de plaquetas, glóbulos rojos y gammaglobulina.

La paciente inicia **corticoterapia** con metilprednisolona y se le realiza punción de médula ósea que informa cambios displásicos mieloides. Al presentar mejoría clínica se deriva por consultorio externo donde se realiza seguimiento con hemogramas semanales.

Al observar **plaquetopenia en laboratorio control** se asume como cuadro de **trombocitopenia idiopática**. Se indica pulso de metilprednisolona con escasa respuesta. Por presentar descensos continuos de recuento de plaquetas en múltiples laboratorios, se indican varias **transfusiones** de concentrados de plaquetas. La gammaglobulina no presenta respuesta y se acude al **Romiplostim** subcutáneo que induce la producción de plaquetas con metprednisolona con posterior mejoría del recuento plaquetario.



En la ecografía abdominal se evidenció hepatosplenomegalia moderada sugestiva de angioma y en la AngioTAC realizada se obtuvieron resultados normales descartando el síndrome de Kussabach-Merritt. En un nuevo laboratorio se observó recuento de plaquetas de 1000/mmc3, y se solicitó análisis (no autorizados) de factor de Von Willebrand, factor de ristocetina, dosaje de factor VIII y exón clínic, planteando descartar otras causas de plaquetopenia como enfermedad de Von Willebrand, trombocitopenia hereditaria y anemia de Fanconi. Además, se realizó un laboratorio completo con pedido de ENA, anti-cardiolipinas IgG/IgM, anticóagulante lúpico y 82 glicoproteína IgG/IgM.

Por mejoría clínica y buen estado general se decide otorgar el alta hospitalaria con pautas de alarma y posterior seguimiento ambulatorio con el Servicio de Hematología. Dicho servicio, decide iniciar tratamiento con **Eltrombopag** durante 2 meses con seguimiento y controles con hemogramas semanales. No se evidencia respuesta ni mejoría con el inductor plaquetario.

Los tratamientos propuestos no resultaron en una mejoría sostenida, lo que refleja la complejidad del caso y la continua búsqueda de un tratamiento efectivo. A la fecha, la paciente recibe el tratamiento con Eltrombopag y a la espera de una fecha de cirugía para una esplenectomía.

La **púrpura trombocitopénica idiopática** se define como una trombocitopenia aislada de origen **autoinmune**, con número normal o aumentado de megacariocitos en médula ósea, sin otra enfermedad subyacente, no atribuible a infección vírica o bacteriana ni a la acción de tóxicos químicos o medicamentos. Su patogenia radica en la eliminación prematura de las plaquetas recubiertas de autoanticuerpos por células del sistema monocuclear fagocítico.

La **esplenectomía** es un tratamiento tradicionalmente considerado en casos de PTI refractaria que puede mejorar significativamente los niveles de plaquetas al eliminar el principal sitio de destrucción plaquetaria mediada por el sistema mononuclear fagocítico. Al remover el bazo, se reduce esta destrucción, permitiendo un aumento en el recuento plaquetario.

[illegible]

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29314>

Monografía

PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA IATROGÉNICA

Herrera, Camila

Masiá Rojkin, María Paz

Bioq. Georgina Rubies

Bioq. Mirta Tartabini

Hospital de Niños Zona Norte - 2024

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Paciente femenina de 11 años de edad sin antecedentes familiares significativos que ingresa por guardia el día 4 de diciembre presentando **metrorragias, petequias y hematomas en miembros inferiores** y es derivada a la Unidad de Terapia Intensiva (UTI) del Hospital de Niños de Zona Norte “Dr. Roberto N. Carra” por presentar **síndrome anémico con marcada plaquetopenia** (plaquetas 50 mil/mm³, ver laboratorio 4/12), y sospecha de **púrpura trombocitopénica autoinmune**. Se realiza transfusión de plaquetas y de glóbulos rojos, y gammaglobulina.

A partir del día 18 de diciembre, ingresa a sala general donde se realiza **corticoterapia con metilprednisolona** y se le realiza **punción de médula ósea** que informa cambios displásicos mieloeritroides. A la fecha 22 de diciembre, la paciente recibe el alta por presentar mejoría clínica, y es derivada por consultorio externo donde se realiza seguimiento con hemogramas semanales.

El día 4 de enero ingresa a internación en sala general para seguimiento y mayor control tras constatar plaquetopenia en laboratorio control (plaquetas 7 mil/mm³, ver laboratorio completo 4/01). Se asume como cuadro de **trombocitopenia idiopática** (bicitopenia). Se indica ácido fólico, complejo B12, anticonceptivos orales, vitamina D y calcio. Durante su internación es abordada por el Servicio de Hematología donde se indica **pulso de metilprednisolona por 72 horas con escasa respuesta**. Por presentar descensos continuos de recuento de plaquetas en múltiples laboratorios, se indican varias transfusiones de concentrados de plaquetas.

Durante su internación, la paciente recibió **gammaglobulina sin respuesta**, por lo que se administra **Romiplostim** subcutáneo (induce la producción de plaquetas) en una oportunidad y **meprednisona** cada 12 hs por 4 días con **posterior mejoría** de los valores de plaqueta. Se realiza en una ecografía abdominal donde se evidencia **hepatoesplenomegalia moderada sugestiva de angioma**. Se realiza una interconsulta con Servicio de Dermatología y de Cirugía para solicitar AngioTAC cuyo resultado es normal, con el objetivo de descartar síndrome de Kassabach-Merri. Se solicita nuevo laboratorio (plaquetas 1000/mm³, ver laboratorio

completo 16/01) con análisis pendientes (no autorizados) de factor de Von Willebrand, factor de ristocetina, dosaje de factor VIII y exón clínico, planteando descartar otras causas de plaquetopenia como enfermedad de Von Willebrand, trombocitopenia hereditaria y anemia de Fanconi.

Se realiza una interconsulta con el Servicio de Reumatología donde se solicita realizar fondo de ojo cuyo resultado es normal y laboratorio completo con pedido de ENA, anti-cardiolipinas IgG/IgM, anticoagulante lúpico y $\beta 2$ glicoproteína IgG/IgM.

Al 18 de enero, la paciente presenta mejoría clínica y buen estado general por lo que se decide otorgar el alta hospitalaria con pautas de alarma y posterior seguimiento ambulatorio con el Servicio de Hematología. Dicho servicio, decide iniciar tratamiento con Eltromboplag (inductor de la producción de plaquetas) durante 2 meses con seguimiento y controles con hemogramas semanales hasta la fecha. No se evidencia respuesta ni mejoría con el inductor plaquetario.

MARCO TEÓRICO

La **trombocitopenia** (cifra de plaquetas inferior a 100.000 plaquetas/ ml en sangre) puede deberse a alteraciones de la médula ósea (trombocitopenias centrales) o a afecciones de las plaquetas circulantes (trombocitopenias periféricas).

Las **trombocitopenias periféricas** se deben a la desaparición de las plaquetas una vez que están en circulación periférica. Cursan con megacariocitos normales o aumentados en la médula ósea y semivida plaquetaria acortada. Pueden deberse a causa inmunológica o a hiperconsumo, que ocurre principalmente en la sepsis, hiperesplenismo, microangiopatías, asociadas con hemangiomas cavernosos (síndrome de Kasabach-Merritt), en la coagulación intravascular diseminada, hemorragias graves y procedimientos capaces de consumir plaquetas como la circulación extracorpórea y la hemodiálisis.

Las **trombocitopenias de causa inmune**, agudas o crónicas, presentan un aumento de inmunoglobulinas adheridas sobre la superficie plaquetaria. Las **trombocitopenias agudas**

suelen ser secundarias a infecciones o ingesta de medicamentos, vacunas o posterior a un proceso vírico, al paso transplacentario de anticuerpos antiplaquetarios o a la sensibilización transfusional. Mientras que las **trombocitopenias crónicas** se asocian a enfermedades como lupus eritematoso sistémico (LES), infección por VIH, inmunodeficiencias adquiridas, leucemia linfática crónica o sarcoidosis, aunque con mayor frecuencia son idiopáticas.

Presentan clínicamente púrpura petequeal o equimótica, epistaxis, gingivorragias y metrorragias. Con menos frecuencia aparecen hemorragias retinianas, del humor vítreo y de las meninges. La exploración de la médula ósea permite distinguir entre formas megacariocíticas y formas amegacariocíticas. La dosificación de las inmunoglobulinas adheridas a la superficie de las plaquetas puede confirmar el origen inmunológico de la trombocitopenia.

La **púrpura trombocitopénica idiopática (PTI)** se define por exclusión como una trombocitopenia aislada de origen autoinmune, con número normal o aumentado de megacariocitos en médula ósea, sin otra enfermedad subyacente, no atribuible a infección vírica o bacteriana ni a la acción de tóxicos químicos o medicamentos. Su patogenia radica en la eliminación prematura de las plaquetas recubiertas de autoanticuerpos por células del sistema mononuclear fagocítico (SMF). El principal lugar de eliminación de las plaquetas es el bazo, pero el hígado y la médula ósea pueden contribuir significativamente. Hay una buena relación entre la cantidad de IgG adherida a la plaqueta y la cifra y vida media plaquetaria. En la PTI los valores del trombopoyetina circulante son normales o algo disminuidos, en contraste con las trombocitopenias amegacariocíticas.

La trombocitopenia es mediada por distintos mecanismos: la destrucción plaquetaria es causada, básicamente, por anticuerpos antiglicoproteínas plaquetarias (principalmente, IIb/IIIa), pero también por citotoxicidad por células T CD8+. Estos mecanismos actúan, además, sobre los megacariocitos e inhiben la síntesis de plaquetas. Los niveles inadecuados de trombopoyetina contribuyen a esta menor síntesis. Hay evidencia que sugiere que algunos isotipos de anticuerpos no causan destrucción, sino que inhiben la activación plaquetaria.

La **PTI** debe cumplir los cuatro requisitos siguientes: trombocitopenia, ausencia de enfermedad infecciosa aguda concomitante, ausencia de patología sistémica de base, y megacariocitos normales o aumentados en la médula ósea. Los estudios mínimos que se deben pedir al momento de la primera consulta son los siguientes: hemograma completo con recuento de plaquetas y visualización del frotis de sangre periférica, coagulograma, serología viral y prueba de Coombs directa. Si la trombocitopenia se acompaña de anemia y/o leucopenia, deberán descartar otras patologías causantes, fundamentalmente, leucemia aguda y aplasia medular.

Dada la variabilidad espontánea de la cifra de plaquetas y la existencia de trombocitopenias prolongadas sin sangrado, el tratamiento se inicia con glucocorticoides (efecto sobre el endotelio vascular) y, si no se consigue respuesta o hay contraindicación para su empleo, se recurre a la administración intravenosa de Ig a dosis elevadas o a la infusión de globulina anti-D. Como segunda línea se realiza la esplenectomía. La terapéutica citostática inmunosupresora se utiliza ante la ineficacia o contraindicación de las anteriores. Cada vez se tiende a retrasar más la esplenectomía y se ensayan agentes con actividad trombopoyética que incrementan el recuento plaquetario (Romiplostin, Eltrombopag).

Romiplostim es un medicamento cuya función es activar las vías de transcripción intracelular para aumentar la producción de plaquetas a través del receptor de la trombopoyetina (TPOR). Su función es mimetizar la acción de la trombopoyetina natural al unirse al TPOR. De esta manera, las células de la médula ósea generan más cantidad de plaquetas.

Eltrombopag interacciona con el dominio transmembrana del TPOR y activa sistemas de transducción de señales que son parecidos ya que funciona como un agonista del TPOR, pero no idénticos a los de la TPO endógena y que inducen la proliferación y diferenciación de los megacariocitos y las células progenitoras de la médula ósea.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES DEL CASO

La paciente presenta un cuadro complejo de trombocitopenia, inicialmente diagnosticado como púrpura trombocitopénica autoinmune. Esta patología se presenta con un aumento de inmunoglobulinas adheridas sobre la superficie plaquetaria, es una condición en la que el

sistema inmunológico ataca y destruye las plaquetas, resultando en niveles anormalmente bajos de estas células sanguíneas esenciales para la coagulación, comprometiendo la función hemostática. Se constata en el laboratorio del 4 de diciembre un aumento marcado en las proteínas totales a expensas de las inmunoglobulinas de isotipo IgG. También se refleja marcada anemia y una disminución del fibrinógeno debido al intento de detener la hemorragia.

La intervención inicial incluyó transfusiones de plaquetas y glóbulos rojos, y administración de gammaglobulina, un tratamiento estándar para la púrpura autoinmune que busca reducir la destrucción de plaquetas mediada por anticuerpos. Sin embargo, la falta de una respuesta sostenida llevó a la necesidad de una reevaluación diagnóstica y un manejo más intensivo con corticoterapia, que funciona suprimiendo la respuesta inmunitaria aberrante e inhibiendo la fijación de los anticuerpos anti-plaquetarios a la superficie de las plaquetas.

El origen viral es una causa conocida de trombocitopenia, especialmente en infecciones virales agudas como la rubéola, el VIH, y otros virus que pueden afectar la médula ósea o la destrucción periférica de plaquetas. Sin embargo, en este caso, no se documentaron infecciones virales recientes ni signos clínicos compatibles con infecciones virales agudas. Además, no se mencionan resultados positivos en pruebas virales específicas, lo que apoya la exclusión de un origen viral en la trombocitopenia de esta paciente.

Ante la baja respuesta de esta terapia combinada reflejada en una continua plaquetopenia (ver gráfico variación en el recuento de plaquetas vs fecha), se descarta una púrpura de origen autoinmune e ingresa el 4 de enero a internación para más estudios y se concluye **PTI**.

La disminución continua de plaquetas, a pesar de múltiples transfusiones y tratamientos con inmunoglobulina y corticoides, llevó a la administración de Romiplostim. La respuesta clínica inicial a este agente fue suficiente, pero no persistente en el tiempo (ver gráfico variación en el recuento de plaquetas vs fecha).

La ecografía abdominal que mostró hepatoesplenomegalia y la posterior AngioTAC normal, junto con la necesidad de descartar el síndrome de Kassabach-Merrit, indican una búsqueda exhaustiva de causas secundarias de trombocitopenia.

La persistente trombocitopenia llevó a estudios adicionales para descartar otras causas como la enfermedad de Von Willebrand, trombocitopenia hereditaria y anemia de Fanconi, así como evaluaciones reumatológicas que incluyen pruebas para anticuerpos antiplaquetarios, anticoagulante lúpico, factor antinuclear, anticuerpos anti-antígenos nucleares extraíbles y anti-ADN, todos ellos importantes para descartar el LES y otros síndromes antifosfolipídicos. Esto se puede observar en la tabla de laboratorio inicial.

Finalmente, el tratamiento con Eltrombopag no resultó en una mejoría sostenida, lo que refleja la complejidad del caso y la continua búsqueda de un tratamiento efectivo. A la fecha, la paciente recibe el tratamiento con Eltrombopag y a la espera de una fecha de cirugía para una esplenectomía. La esplenectomía es un tratamiento tradicionalmente considerado en casos de PTI refractaria que puede mejorar significativamente los niveles de plaquetas al eliminar el principal sitio de destrucción plaquetaria mediada por el sistema mononuclear fagocítico. Al remover el bazo, se reduce esta destrucción, permitiendo un aumento en el recuento de plaquetas.

Tabla de laboratorio

Laboratorios	4/12	4/1	12/01	16/01	26/01	31/01	VR
Glóbulos rojos	2,78	4,45	3,77	3,7	4,22	4,08	4.06-4.69
Hemoglobina (g/dl)	7,1	10,2	8,8	8,6	9,6	9,5	12.9-14.2
Hematocrito (%)	21,1	34,2	28,1	27,1	31,3	30,8	37.7-53.7
Plaquetas (mil/m3)	50	7	55	1	3	8	150-400
Observaciones	Anisopoiquilocitosis. Anisocromía	Moderada anisocitosis y ligera hipocromía	Anisopoiquilocitosis	Anisopoiquilocitosis	Anisopoiquilocitosis	Anisopoiquilocitosis. Discreta hipocromía	
Fibrinógeno (mg/dl)	186						200-400
Proteínas totales (g/dl)	8,8		9,3				6.1-7.9
Albumina (g/dl)			3,7				4.02-4.76
Inmunoglobulinas (g/dl)			5,6				
Observaciones PxE	Ligera hiperalfa1globulina. Marcada hipergammaglobulina poli clonal		Ligera hiperbeta1globulina. Marcada hipergammaglobulina				
IgG (mg/dl)	4061		4485				816-1064
Anticuerpos anti- A-ADN						REACTIVO	Título de
A-ENA (U)			REACTIVO MODERADO 33		No reactivo para ADN ds, histonas, smD1, snRNP, a-Ro, a-La, scl70, CENP-B, Jo1, nucleosomas	NO REACTIVO	20-60
FAN	REACTIVO: 1/40		REACTIVO: 1/160				
Anticoagulante lúpico			0,9				<1.2



PERSPECTIVAS

La punción de médula ósea que reveló cambios displásicos mieloeritroides sugiere una posible disfunción en la producción celular, pero no específica para PTI, y plantea la necesidad de investigar otras etiologías, incluyendo síndromes mielodisplásicos o trastornos hereditarios.

El caso de esta paciente ilustra las dificultades diagnósticas y terapéuticas en el manejo de trombocitopenias refractarias. Aunque inicialmente tratada como una PTI, la falta de respuesta a terapias estándares y la evidencia de displasia en la médula ósea sugieren una posible etiología más compleja o multifactorial. Para continuar la evaluación exhaustiva de la PTI, se sugiere la correcta evaluación para causas secundarias, incluyendo trastornos autoinmunes y hereditarios, es esencial para un diagnóstico preciso y tratamiento efectivo.

BIBLIOGRAFÍA

Farreras, A. & Rozman C. (2020). Medicina Interna - Hematología (19a ed.). Tomo 2.

https://www.sap.org.ar/uploads/consensos/consensos_trombocitopenia-inmune-guia-de-diagnostico-y-tratamiento-91

<https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000535.htm>

<https://sah.org.ar/docs/GuiaPTlvf-1.pdf>

Wintrobe Hematología Clínica. Novena edición. Volumen 2. G. Richard Lee- Thomas C.

Bithell.

https://docs.google.com/spreadsheets/d/1kHqFiWaegfFLvdGxKSHQsqUaQq91_YNSS0Q3AfGR8h4/edit?usp=sharing

TF05

Alumnas: Acosta, Fabrina Rocío; Ahmad, Yadia Marisol

Tutor Académico: Rossi, Juan Ángel

Lugar de realización: Hospital Escuela Eva Perón

Póster



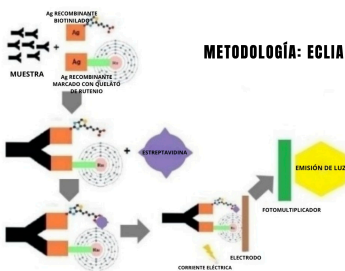
IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE PATOLOGÍAS TIROIDEAS



Acosta, Fabrina R.¹; Ahmad Yadia M.¹; Mariño Matías² ; Lores, Claudia²; Molinari, Silvina²; Rossi, Juan A.²
¹ Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas ²Hospital Escuela Eva Perón

PRESENTACIÓN

Nos centraremos en un caso que ingresó al Laboratorio Central donde se halló un valor excepcional e infrecuente en la práctica diaria. Se trataba de un resultado de Tiroglobulina mayor a 500 ng/ml en un paciente masculino, de 37 años de edad que ingresó a la guardia del hospital por cuadro de 1 mes de evolución caracterizado por vómitos, palpitaciones, sudoración nocturna, bocio marcado, pérdida de peso, temblores, ansiedad y exoftalmia con diagnóstico presuntivo de Hipertiroidismo Autoinmne.



Prueba	Resultado	Valor de referencia
TSH	<0,005 uIU/ml	0,27 - 4,20
T4	>24,860 ug%	5,1 - 14,1
T3	> 651 ng%	80 - 220
TIROGLOBULINA	>500,00 ng/ml	1,40 - 78,00
TAL	>7,77 ng/dl	0,93 - 1,70
ACS A - RECEPTOR TSH	33,86 U/I	0,00 - 1,75
ACS A - TIROGLOBULINA	25 U/ml	0 - 115
ACS A - TIROPEROXIDASA	100 U/ml	0 - 34

CONCLUSIÓN

Los resultados que se informaron del Laboratorio, apenas 2 horas después de su solicitud, contribuyeron definitiva y francamente al establecimiento del diagnóstico, a la conducta terapéutica inmediata y a las futuras acciones médicas que se consideraron pertinentes. Arroja información sustancial para lograr diferenciar entre las distintas patologías con una clínica similar. En este caso que le permitió confirmar el hipertiroidismo y determinar su origen. Por lo tanto, los laboratorios clínicos deben su importancia a la capacidad que tiene para generar información detallada y precisa que sirve de guía a la hora de la toma de decisiones médicas.

PERSPECTIVAS

- Propender siempre a una mayor y mejor comunicación entre los profesionales de las distintas áreas médicas y bioquímicas.
- Mantener el contacto con el paciente para el seguimiento del tratamiento instaurado mediante las pruebas de laboratorio adecuadas
- No olvidar que detrás de cada resultado, hay un paciente que merece siempre la personalización adecuada que, a veces, requiere mayor esfuerzo adicional al mero hecho de elevar un informe al médico solicitante.
- Sugerir la incorporación de las enfermedades tiroideas a las campañas de concientización del Hospital, así como la entrega de folletos con información relevante. Creemos que es importante aumentar la conciencia de la población sobre los síntomas asociados a las enfermedades tiroideas, de modo que puedan buscar atención médica y obtener así un diagnóstico más rápido.

Bibliografía



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29315>

Monografía

Importancia del laboratorio en el diagnóstico rápido de patologías tiroideas.

Autores:

Acosta, Fabrina Rocio.

Ahmad, Yadia Marisol.

Tutores:

Molinari, Silvina.

Rossi, Juan Ángel.

Institución:

Hospital Escuela Eva Perón.

Presentación

En el presente trabajo se desarrolla la importancia del rol del laboratorio público asistencial en el diagnóstico rápido de enfermedades autoinmunes, particularmente las tiroideas.

Para ello nos centraremos en un caso que ingresó al Laboratorio Central donde se halló un valor excepcional e infrecuente en la práctica diaria. Se trataba de un resultado de Tiroglobulina mayor a 500 ng/ml en un paciente masculino, de 37 años de edad que ingresó a la guardia del hospital por cuadro de 1 mes de evolución caracterizado por vómitos, sudoración nocturna, bocio marcado, palpitaciones, pérdida de peso, temblores, ansiedad y exoftalmia con diagnóstico presuntivo de Hipertiroidismo Autoinmune.

Marco teórico

Normalmente, el sistema inmune distingue lo propio de lo extraño y nos defiende de agentes externos como los virus o bacterias. Una enfermedad autoinmune es una condición patológica en la cual el sistema inmunitario se convierte en el agresor que ataca y destruye a los propios órganos y tejidos corporales sanos. El estudio de enfermedades inmunológicas resulta complejo y requiere exámenes específicos. A menudo, el diagnóstico de una enfermedad autoinmune implica la detección de autoanticuerpos, aunque su mera presencia no es suficiente para confirmarlo. Por lo tanto, es esencial comprender las características clínicas de cada enfermedad y los grupos etarios más afectados. Esto, junto con los antecedentes médicos y familiares, ayuda a determinar el nivel de sospecha diagnóstica antes de solicitar pruebas adicionales (Hospital Aleman, 2024).

Las enfermedades autoinmunes constituyen un grupo heterogéneo de patologías, con manifestaciones clínicas diversas en función del órgano y/o tejido afectado. Se las clasifica en sistémicas y órgano-específicas. En este contexto, uno de los órganos que podría ser afectado es la glándula tiroides, pudiendo generar diversas patologías, como es el caso de la Enfermedad de Graves.

Particularmente, es una enfermedad autoinmune caracterizada por hipertiroidismo secundario a autoanticuerpos circulantes y a inmunoglobulinas estimulantes del tiroides que se unen y activan al receptor de tirotropina que se encuentra en la superficie de las células

foliculares tiroideas, causando un incremento de la síntesis de hormonas T3 y T4 y un aumento de volumen de la glándula tiroides (Rey Nodar, S., 2012). Las manifestaciones dependen de la edad del paciente al inicio de la patología, de la gravedad y duración de esta forma de hipertiroidismo; sin embargo, esta tiene una presentación clínica muy característica que permite su identificación. Entre los signos y síntomas más específicos para sospechar la presencia de la enfermedad está la tríada de bocio, palpitaciones y exoftalmos, además de inquietud motora, ansiedad, irritabilidad, fatiga, pérdida de peso, debilidad muscular y sudoración (Alzate, Manuela C.; Rojas, Manuela A., 2023).

Durante los últimos cuarenta años, los avances en la sensibilidad y especificidad de los métodos bioquímicos para el estudio de la función tiroidea han tenido un notable impacto en el diagnóstico más certero, más preciso y más rápido como así también en el tratamiento de las enfermedades tiroideas. Actualmente se dispone de determinaciones séricas de hormonas tiroideas totales (TT4 y TT3), libres (T4L y T3L), y de tirotropina (TSH). Por otra parte, el reconocimiento de la autoinmunidad, como causa de disfunción tiroidea, ha conducido al desarrollo de métodos para la detección de autoanticuerpos antitiroideos: anticuerpo antiperoxidasa tiroidea (a-TPO), anticuerpo antitiroglobulina (a-TG) y anticuerpo antireceptor de TSH (a-TSHR), siendo su determinación parte importante de la evaluación del paciente con enfermedad tiroidea (Marrero Rodríguez, María T, 2012).

Estas determinaciones nombradas se realizan por el método de electroquimioluminiscencia (ECLIA). Esta es una inmunoreacción donde el Ac o el Ag biotinilado se incuba con la muestra y el marcador de Rutenio unido a Ag o Ac. El inmunocomplejo formado es capturado por partículas de poliestireno magnéticas recubiertas con estreptavidina que fijan a las moléculas biotiniladas, y luego de una incubación las partículas son arrastradas a una celda de flujo. Allí el proceso continúa del siguiente modo, primero se separa la fracción unida de la libre mediante un magneto ubicado debajo del electrodo, el inmunocomplejo queda retenido en la superficie del electrodo. Posteriormente a un lavado, se genera la señal de electroquimioluminiscencia al aplicar un voltaje al electrodo. El rutenio pasa a un estado excitado, inestable y luego decae a su estado basal emitiendo un fotón a 620 nm. Una sola molécula de rutenio puede generar muchos fotones por reciclado del proceso de excitación, logrando la amplificación de la señal con límites bajos de detección.

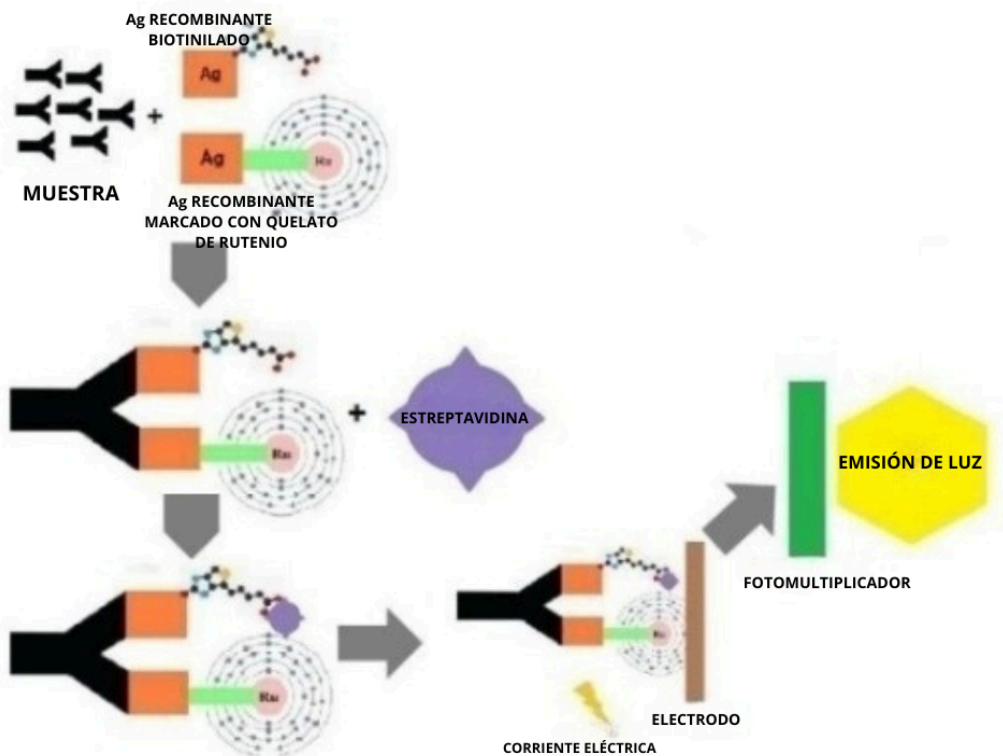


Imagen 1: Metodología ECLIA

La tiroglobulina (Tg) es una glucoproteína sintetizada por los tirocitos y segregada a la luz de los folículos tiroideos. Su producción es estimulada por la Tirotrófina y por el déficit de yodo. Es indispensable para la síntesis de las hormonas tiroideas (T3 y T4). Se han descrito concentraciones elevadas en diferentes trastornos tiroideos tales como la enfermedad de Hashimoto, la enfermedad de Graves, el adenoma tiroideo y el carcinoma de tiroides. La detección se hace utilizando anticuerpos monoclonales biotinilados anti-Tg y un anticuerpo monoclonal anti-Tg marcado con quelato de rutenio (Roche Diagnostics, 2023). Su principal utilidad es en el seguimiento de tratamiento de cáncer tiroideo, pero en aquellos casos donde no lo haya aporta valor diagnóstico a la tirotoxicosis facticia, en la cual no se encuentran elevados los niveles de Tg, para investigar la etiología del hipotiroidismo congénito, evaluar la actividad de la tiroiditis inflamatoria (tiroiditis subaguda y tiroiditis inducida por amiodarona), confirmar antecedentes de tiroiditis (hasta 2 años), dado que la Tg es el último parámetro bioquímico en normalizarse después de una tiroiditis y es un

indicador del estado de ingesta de yodo en una determinada población (Marrero Rodríguez, María T, 2012).

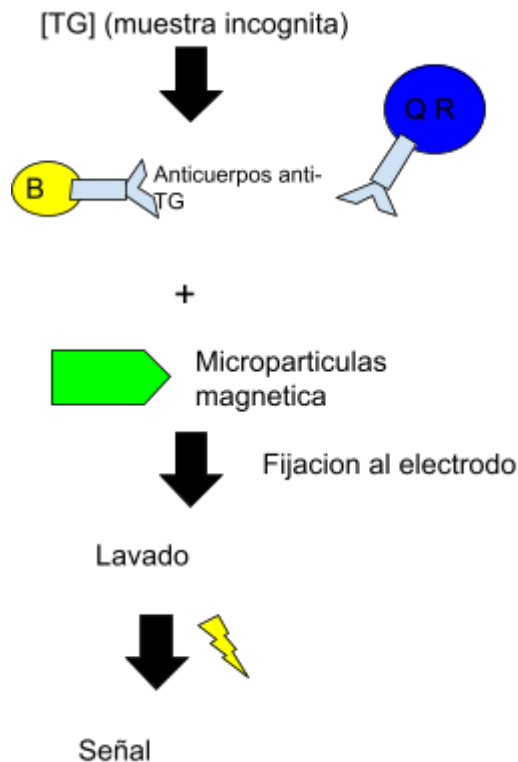


Imagen 2: ECLIA para TG

Dentro de las pruebas también realizadas se encuentra la hormona estimulante de la glándula tiroides (TSH) que es una glucoproteína compuesta por dos subunidades. Se produce en las células basófilas específicas de la hipófisis y está sujeta a un ritmo circadiano de secreción. La liberación hipofisaria de la TSH constituye uno de los mecanismos reguladores de la acción biológica de las hormonas tiroideas. Pequeñas variaciones en la concentración de la fracción libre de las hormonas tiroideas implican importantes alteraciones a nivel de TSH. Es un parámetro altamente sensible y específico para la interpretación de la función tiroidea, idóneo para la detección y/o exclusión de alteraciones en el mecanismo de regulación central del hipotálamo, hipófisis y la tiroides. Para su detección se utilizan anticuerpos monoclonales dirigidos contra la TSH humana. Su utilidad principal es la detección de hipo e hipertiroidismo primario. Además es importante para

diferenciar entre hipotiroidismo 1^{ro} y 2^{ro} y el control del tratamiento con hormonas tiroideas (Roche Diagnostics, 2023; Marrero Rodríguez, María T, 2012).

En cuanto a la T4 influye de manera anabólica sobre el metabolismo, formándose en la tiroides en una reacción que acopla dos moléculas DIT (3,5 - diyodotirosina). La detección de T4 se recomienda en la detección de hipo e hipertiroidismo. Solo un pequeño porcentaje circula libre, que es la biológicamente activa. La mayor parte de encuentra unida a la globulina fijadora de tiroxina (TBG), prealbúmina y albúmina es por eso que las determinaciones de T4 total y T3 Total son útiles en situaciones clínicas en las que no se presenten anomalías relativas a los niveles circulantes de las mismas. (Roche Diagnostics, 2024; Marrero Rodríguez, María T, 2012)

Además, la determinación de T4 libre (T4L) se utiliza para evaluación de hipo e hipertiroidismo, en cuadros que provoquen cambios proteicos que afecten a la T4 total, como, por ejemplo; ingesta de fármacos, alteraciones proteicas por trastornos renales. La determinación de tiroxina libre se ha convertido en un método esencial de diagnóstico clínico de rutina, se mide conjuntamente con la TSH frente a la sospecha de una disfunción tiroidea, también es idónea para supervisar tratamientos tiro-supresores. Dicha evaluación se efectúa con un anticuerpo específico anti-T4 marcado con quelato de rutenio (Roche Diagnostics, 2022; Marrero Rodríguez, María T, 2012).

Por otro lado, T3 es la principal hormona responsable de los efectos de las hormonas tiroideas sobre los distintos órganos diana. La mayor parte de la T3 se forma de manera extratiroidea en el hígado por 5' desyodación de la T4. Esta es la razón por la cual la T3 refleja más el estado funcional del tejido periférico que la tasa de secreción. Se utilizan anticuerpos policlonales específicos dirigidos contra la T3. Su utilidad se basa en el diagnóstico de: hipertiroidismo por T3, para detectar hipertiroidismo precoz, así como para el diagnóstico de tirotoxicosis facticia. (Roche Diagnostics, 2023; Marrero Rodríguez, María T, 2012).

Particularmente la triyodotironina libre (fT3) representa solamente el 0.2-0.4 % de la T3 total, es la forma biológicamente activa. Tiene la ventaja de no depender de variaciones en la concentración ni la capacidad de fijación de las proteínas ligantes. Su determinación se realiza utilizando un anticuerpo monoclonal anti-T3. Es útil para diagnóstico de

hipertiroidismo y su tratamiento y también tirotoxicosis por T3 (Roche Diagnostics, 2023; Marrero Rodríguez, María T, 2012).

El anticuerpo anti-tiroperoxidasa (anti-TPO) es un anticuerpo dirigido contra la tiroperoxidasa, el cual se encuentra en títulos elevados en el 70-85% de los pacientes afectados por la enfermedad de Graves-Basedow. El anticuerpo es detectado empleando antígeno recombinado y anticuerpo policlonales anti-TPO marcados con rutenio. Es útil para el diagnóstico diferencial de la enfermedad de Graves Basedow, y de otras causas de hipertiroidismo, como son, tirotoxicosis facticia, tiroiditis subaguda, tiroiditis posparto y bocio nodular tóxico, como factor predictivo de disfunción tiroidea durante la terapia con interferón alfa, interleucina 2, amiodarona o litio, y como indicador de riesgo de hipotiroidismo autoinmune en población mayor de 60 años, con síndrome de down y durante el embarazo (Roche Diagnostics, 2022; Marrero Rodríguez, María T, 2012).

Siguiendo con los anticuerpos anti- tiroglobulina (anti-Tg) se encuentran normalmente elevados en tiroiditis de origen autoinmune. Su frecuencia es de un 30-50% en personas con la enfermedad de Graves-Basedow. Es normalmente utilizado para el diagnóstico y seguimiento en la tiroiditis de Hashimoto o descartar diagnósticos diferenciales (Roche Diagnostics, 2023).

La medición de anticuerpos anti-TSHR (TRAb) resulta útil en la detección o exclusión del hipertiroidismo autoinmune y la diferenciación entre hipertiroidismo autoinmune y autonomía diseminada tiroidea. La presencia de TRAb indica que la tirotoxicosis del paciente tiene más bien una etiología autoinmune y no se debe a un bocio nodular tóxico. También se utiliza en el seguimiento del tratamiento en pacientes con la enfermedad de Graves-Basedow y en la predicción de recidiva y durante el último trimestre del embarazo ya que los TRAb son anticuerpos del tipo inmunoglobulina G capaces de traspasar la placenta pueden provocar que el neonato contraiga la enfermedad tiroidea (Roche Diagnostics, 2023).

Resultados

Ante la observación del resultado anormal consideramos para nuestra formación indagar sobre el paciente. Para ello nos dirigimos a la sala de donde provenían sus solicitudes y conversamos con él y sus médicos a cargo.

Si bien la signosintomatología era muy significativa los profesionales a cargo evaluaron la solicitud de algunos análisis de laboratorio para su diagnóstico definitivo y tratamiento inicial.

Los análisis generales prescritos fueron: Hemograma completo, Ácido base, Ionograma, Hepatograma, Inmunoserología, Fosfatemia, Calcemia, Glicemia, Creatinina, Uremia y Magnasemia. Dentro de los de directa especificidad con la patología se solicitó: Acs anti TPO, y a-Tg, Tiroglobulina, TSH, T4, T4L, T3 y Acs anti receptor de TSH.

Se observó un ligero aumento de glóbulos blancos acompañado de una moderada eosinofilia fue el único hallazgo entre los parámetros rutinarios y a los que no se les asignó ninguna implicancia definitiva. En cambio los valores siguientes fueron contundentes:

PRUEBA	RESULTADO	UNIDADES	VALOR DE REFERENCIA
Tiroglobulinas	> 500,00	ng/ml	1,40 - 78,00
Tiroxina	> 24,860	µg%	5,1 - 14,1
Tiroxina Libre	> 7,77	ng/dl	0,93 - 1,70
Triiodotironina	> 651	ng%	80 - 220
Tirotrofina Sérica	< 0,005	µUI/ml	0,27 - 4,20
Acs a-Receptor TSH	33,86	U/l	0,00 - 1,75
Acs a-Tiroglobulina	25	UI/ml	0 - 115
Acs a-Tiroperoxidasa	100	UI/ml	0 - 34
Tabla 1: Resultados de los análisis correspondientes al paciente a la fecha 23/4/2024			

Discusión

El paciente presentó síntomas compatibles con un hipertiroidismo como son vómitos, sudoración nocturna, palpitaciones, pérdida de peso, temblores, ansiedad, exoftalmia y un marcado bocio que en la ecografía presentó un aumento de tamaño en forma global con

morfología conservada, parénquima ligeramente heterogéneo, sin lesiones focales. Sin signos de adenomegalias yugulocarotideas bilaterales. Si bien los síntomas son característicos se necesita confirmación por análisis de laboratorio.

Los resultados de laboratorio terminaron por confirmar un hipertiroidismo debido a una TSH prácticamente indetectable y valores de T3, T4 y T4L elevados. En este caso al tener no solo la T3 elevada, sino T4 , T4L y tiroglobulina también elevados, la información que aporta este resultado es apoyando el diagnóstico de hipertiroidismo en vez del de tirotoxicosis facticia.

El origen de este hipertiroidismo se concluye autoinmune debido a la presencia de títulos elevados de Acs a-Receptor de TSH y Acs a-Tiroperoxidasa, que como se mencionó en el marco teórico ambos se utilizan para el diagnóstico o exclusión de un hipertiroidismo autoinmune.

Conclusión

Los resultados que se informaron del Laboratorio, apenas 2 horas después de su solicitud, contribuyeron definitiva y francamente al establecimiento del diagnóstico, a la conducta terapéutica inmediata y a las futuras acciones médicas que se consideraron pertinentes.

Este caso resalta la importancia del laboratorio clínico e inmunológico a la hora de arribar a un diagnóstico ya que arroja información sustancial para lograr diferenciar entre las distintas patologías con una clínica similar. En este caso que le permitió discernir entre sí era un hiper o hipotiroidismo y de qué origen se trataba. Esto resulta crucial para diagnosticar, tratar y monitorear enfermedades, además de contribuir significativamente a la investigación y al avance continuo en el campo de la medicina.

Por lo tanto, los laboratorios clínicos deben su importancia a la capacidad que tiene para generar información detallada y precisa que sirve de guía a la hora de la toma de decisiones médicas. Por ello deben ser protagonistas en los diseños de planes y protocolos específicos y de su aplicación en su área de influencia.

Perspectivas

Entre las consideraciones finales que se desprenden de nuestro trabajo y que no queremos soslayar se encuentran: propender siempre a una mayor y mejor comunicación entre los profesionales de las distintas áreas médicas y bioquímicas, mantener el contacto con el paciente para el seguimiento del tratamiento instaurado mediante las pruebas de laboratorio adecuadas y no olvidar que detrás de cada resultado, hay un paciente que merece siempre la personalización adecuada que, a veces, requiere mayor esfuerzo adicional al mero hecho de elevar un informe al médico solicitante. Además, nos gustaría sugerir la incorporación de las enfermedades tiroideas a las campañas de concientización del Hospital, así como la entrega de folletos con información relevante. Creemos que es importante aumentar la conciencia de la población sobre los síntomas asociados a las enfermedades tiroideas, de modo que puedan buscar atención médica y obtener así un diagnóstico más rápido.

Bibliografía

1. Rey Nodar, S. 2012. *Patología de la glándula tiroides: Texto y Atlas*. (1 ed.). Bubok Publishing S.L. Recuperado de:
<https://www.bubok.es/libros/220399/patologia-de-la-glandula-tiroides-texto-y-atlas-digital>
2. Hospital Alemán. (Servicio de Clínica Médica). (2024). *Enfermedades autoinmunes: ¿qué pasa cuando el propio cuerpo me ataca?*. Recuperado de:
<https://www.hospitalaleman.org.ar/mujeres/enfermedades-autoinmunes-pasa-cuando-propio-cuerpo-me-ataca/>
3. Alzate, Manuela C.; Rojas, Manuela A.. *ENFERMEDAD DE GRAVES: CARACTERÍSTICAS GENERALES E IMPLICACIONES HEMATOLÓGICAS*. Revista Argentina de Medicina, Vol. 11, Núm. 2. (2023). Recuperado de:
<http://www.revistasam.com.ar/index.php/RAM/article/view/845/780>
4. Marrero Rodríguez, María T.. *Utilidad clínica de las pruebas hormonales e inmunológicas en la evaluación de las enfermedades del tiroides*. Revista Cubana de Endocrinología, Vol. 23, Núm. (2012). Recuperado de:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532012000300010
5. Roche Diagnostics. (2022). *Elecsys Anti-TPO*. Indianapolis, IN, EE.UU
6. Roche Diagnostics. (2023). *Elecsys FT3 III*. Indianapolis, IN, EE.UU
7. Roche Diagnostics. (2023). *Elecsys Tg II*. Indianapolis, IN, EE.UU
8. Roche Diagnostics. (2022). *Elecsys Anti-Tg*. Indianapolis, IN, EE.UU
9. Roche Diagnostics. (2023). *Elecsys Anti-TSHR*. Indianapolis, IN, EE.UU
10. Roche Diagnostics. (2023). *Elecsys TSH*. Indianapolis, IN, EE.UU
11. Roche Diagnostics. (2024). *Elecsys T4*. Indianapolis, IN, EE.UU
12. Roche Diagnostics. (2022). *Elecsys FT4 III*. Indianapolis, IN, EE.UU
13. Roche Diagnostics. (2023). *Elecsys T3*. Indianapolis, IN, EE.UU
14. Roche Diagnostics. (2023). *Elecsys Anti-Tg*. Indianapolis, IN, EE.U

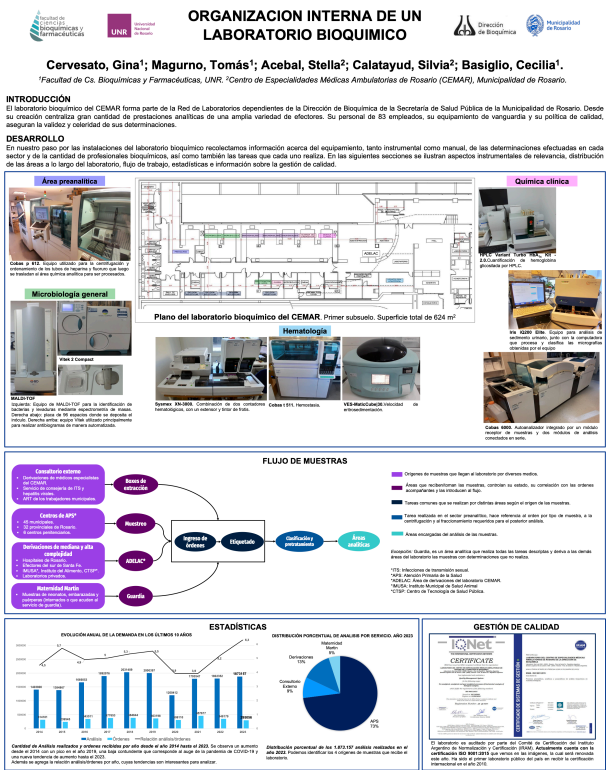
TF06

Alumna: Magurno, Tomás; Cervesato, Gina

Tutor Académico: Basiglio, Cecilia

Lugar de realización: Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (C.E.M.A.R.)

Póster



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29316>

Monografía



Universidad
Nacional
de Rosario



Práctica Profesional Obligatoria (P.P.O.)

Trabajo final

“Organización interna de un laboratorio bioquímico”

Autores:

- Cervesato, Gina
- Magurno, Tomás

Tutora:

- Dra. Basiglio, Cecilia L.

Efector:

Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias Rosario (CEMAR)

Co-formadoras:

- Bioq. Acebal, Stella
- Bioq. Calatayud, Silvia

Año 2024

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS.....	2
Objetivo general.....	2
Objetivos específicos.....	2
DESARROLLO.....	2
Dirección de Bioquímica.....	2
Organización y alcance.....	3
Área Preanalítica.....	4
Muestreo.....	4
Extracción.....	5
Administración.....	5
Área Analítica.....	6
Biología molecular y celular.....	6
Microbiología.....	6
Inmunoanálisis.....	7
Bioquímica Clínica.....	8
Guardia de la Maternidad Martín.....	10
Área Post-analítica.....	10
Validación.....	10
Gestión de calidad.....	10
PERSPECTIVAS Y CONCLUSIÓN.....	11
BIBLIOGRAFÍA.....	12

INTRODUCCIÓN

El Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR) fue inaugurado el 31 de julio de 1999, durante la gestión del entonces intendente de la ciudad Dr. Hermes Binner, en la intersección de las calles San Luis y Balcarce. Surgió para centralizar la atención especializada estatal de la ciudad y, desde su creación, funciona como un gran equipo matricial de apoyo para la red de salud pública de Rosario y la región; constituyendo un modelo de tal éxito que ha sido replicado en Santa Fe capital bajo las siglas de CEMAFE.

El CEMAR se dedica a la resolución de problemáticas sanitarias que implican un grado de especialización y tecnología intermedios pero que no requieren de internación hospitalaria, por ende, es un nexo articulador entre los centros de primer nivel y los hospitales de mayor complejidad. Entre sus especialidades, cuenta con un laboratorio bioquímico donde se reciben muestras principalmente de todos los centros de salud y hospitales municipales, de algunos provinciales, de diversos efectores de salud de la región (SAMCOs) y de laboratorios privados.

OBJETIVOS

Objetivo general

Realizar una descripción global de la organización de un laboratorio bioquímico de referencia en la ciudad.

Objetivos específicos

1. Describir la organización general del laboratorio bioquímico del CEMAR.
2. Describir brevemente las tareas que se realizan en cada área del laboratorio, junto con su equipamiento particular.
3. Realizar una aproximación a la política de calidad de los resultados ofrecidos.
4. Describir el rol que cumple el laboratorio bioquímico del CEMAR en la ciudad.

DESARROLLO

Dirección de Bioquímica

El laboratorio bioquímico del CEMAR es parte de la Red de Laboratorios dependientes de la Dirección de Bioquímica (Fig. 1), la cual pertenece a la Secretaría de Salud Pública de la Municipalidad de Rosario desde su creación en 1978. Dicha red posee estructuras transversales que incluyen: Área Gestión de Calidad, Dirección de Relaciones e Interservicios

(DRI), Centro de Gestión de Muestras, Información y Resultados, Área Suministros de Insumos, Área Soporte Técnico y Móviles de Transportes de muestra e insumos. De esta manera, coordina los 8 laboratorios que la integran para resolver la demanda de análisis de todos los niveles de atención bioquímica, en el tiempo adecuado, con calidad analítica y prestacional, teniendo como laboratorio central el del CEMAR.

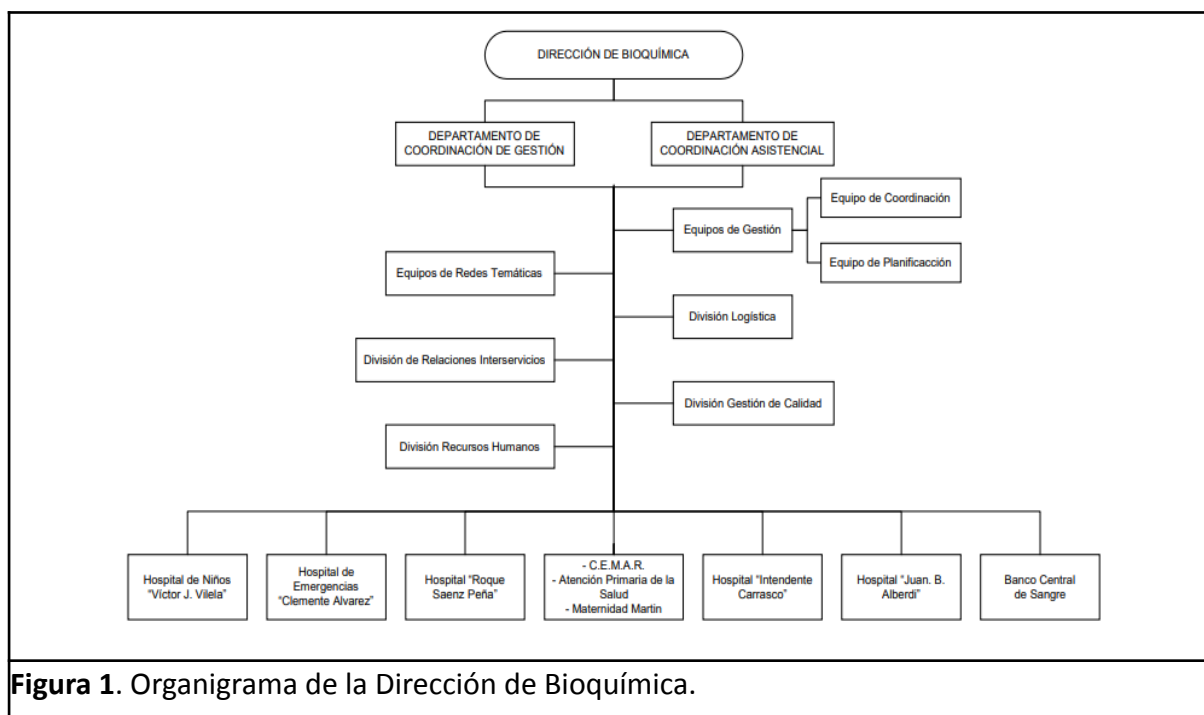
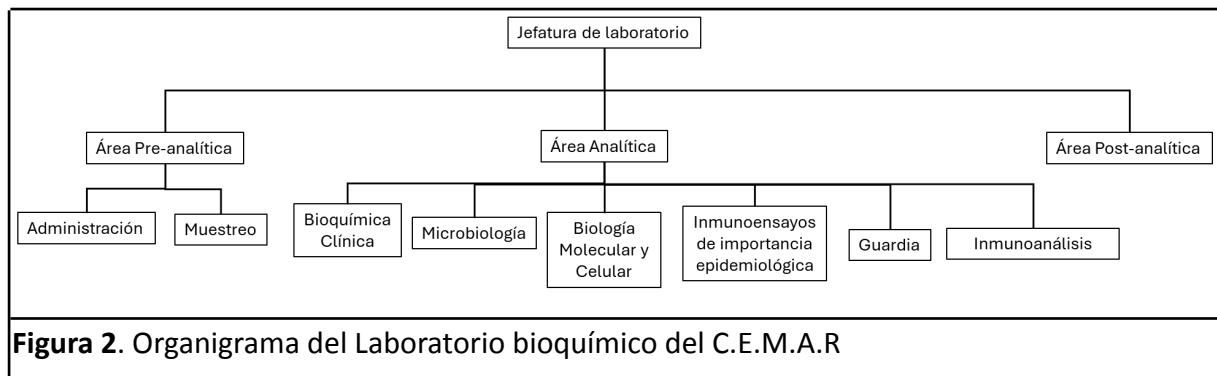


Figura 1. Organigrama de la Dirección de Bioquímica.

Organización y alcance

El laboratorio bioquímico del CEMAR está ubicado en el primer subsuelo del edificio, ocupando una superficie total de 624 m². Posee un total de 83 empleados, de los cuales 58 son profesionales bioquímicos/as, mientras que los 25 restantes son técnicos/as de laboratorio, operarios/as y/o personal administrativo y de soporte informático. La jefatura del laboratorio (Fig. 2) es ejercida por la directora, Bioq. Stella Maris Acebal en conjunto con la vicedirectora, Bioq. Silvia Calatayud; en el orden jerárquico siguiente encontramos 6 jefes de Área, los cuales son también bioquímicos.



Las distintas áreas trabajan en conjunto para resolver eficientemente los análisis de una gran cantidad de muestras por día, las cuales tienen múltiples orígenes que podemos agrupar en 4 grandes grupos.

El **primero** comprende el mayor número de muestras y está compuesto por los centros de Atención Primaria de la Salud (APS). Estos son 45 municipales, 32 provinciales de Rosario, algunos regionales como el de Arequito y 6 centros penitenciarios. De este grupo se reciben unas 800 órdenes al día aproximadamente.

Al **segundo** lo integran pacientes de consultorio externo (CE), es decir aquellas personas que acuden a los boxes de extracción derivados por médicos especialistas que atienden en el CEMAR, el servicio de consejería de infecciones de transmisión sexual (ITS) y hepatitis virales, y la aseguradora de riesgos del trabajo (ART) de los trabajadores municipales. Además, acuden aquellos pacientes de centros de APS que no realizan extracciones. De este grupo se reciben alrededor de 100 órdenes por día.

El **tercer** grupo está compuesto por las muestras provenientes de la Maternidad Martin (ubicada en el 5° y 6° piso del edificio), tanto de neonatos (NE) como de embarazadas y púerperas (MA) internados o que acuden al servicio de guardia.

Por último, el **cuarto** grupo, integrado por muestras derivadas por distintos efectores al CEMAR, a raíz de falta de tecnología. Incluye hospitales de la red municipal y hospitales provinciales de Rosario, 33 efectores de la provincia, el Instituto Municipal de Salud Animal (IMUSA), el Centro de Tecnología de Salud Pública (CTSP) perteneciente a la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FBIOyF) de la Universidad Nacional de Rosario, laboratorios privados, entre otros.

A continuación, se procederá a describir las secciones visitadas de cada área del laboratorio durante nuestra práctica profesional obligatoria.

Área Preanalítica

Muestreo

Sector integrado por un bioquímico referente, 10 técnicos y 6 pasantes cuyas tareas consisten en recibir las muestras provenientes de los centros de APS, cotejar datos filiatorios, faltantes y/o sobrantes con las órdenes, y asignar un número de identificación (ID) para el ingreso a sistema. Luego las muestras son etiquetadas y derivadas para su acondicionamiento (centrifugación, fraccionamiento, etc.) en caso de requerirlo, y finalmente distribuidas a las áreas analíticas correspondientes.

Extracción

Incluye 2 boxes donde se realizan extracciones de 6:30 hs a 10:00 hs. Hay 2 extraccionistas que, además de tomar las muestras, las etiquetan y clasifican, para luego ser recolectadas por un técnico del sector de muestreo que las introduce al flujo operativo intrínseco del laboratorio. Una de ellas realiza 2 turnos fijos matutinos de extracciones en la Maternidad Martín, mientras que otro técnico realiza una rotación por la tarde.

Administración

Admisión y atención al público: encargada de brindar información y asesoramiento, ingresar órdenes de pacientes que concurren para la toma de muestra en los boxes y entregar informes de resultados personalmente.

Centro de ingreso de órdenes provenientes de APS: luego de pasar por Muestreo, en este sector se ingresan las órdenes al sistema con el número de ID de cada paciente y se generan las etiquetas correspondientes a cada muestra. Este sector está integrado por 4 técnicos, quienes simultáneamente realizan una primera instancia de auditoría para agilizar el flujo de trabajo.

Auditoría Interna: 3 a 7 bioquímicas según la demanda, controlan todas las órdenes del día (una vez ingresadas al sistema) y, de acuerdo a una serie de criterios estipulados, eliminan ciertas determinaciones con el fin de optimizar recursos. Además, verifican el correcto ingreso al sistema de cada determinación y los datos filiatorios. Existe un control continuo que lleva a la toma de decisiones con el fin de corregir errores que se cometen en el área preanalítica.

Área de derivaciones del laboratorio CEMAR (ADELAC): sector encargado de las derivaciones de alta complejidad. Realiza el ingreso de órdenes al sistema, recepción de muestras, etiquetado y clasificación, como también el envío de informes de resultados. También se

encarga de recopilar y enviar las fichas epidemiológicas de infecciones de denuncia obligatoria; y del acondicionamiento para la derivación de muestras por parte del laboratorio.

Área Analítica

Biología molecular y celular

Sector dedicado principalmente al diagnóstico y seguimiento molecular de infecciones, siendo un Centro de Referencia a nivel del Sur de la provincia de Santa Fe de detección de virus respiratorios como SARS-CoV-2, dengue, zika y chikunguña; fiebre hemorrágica, leptospirosis, tuberculosis, chagas y HIV. En conjunto con el CTSP, nuclea las tipificaciones y confirmaciones diagnósticas de agentes virales, bacterianos, micológicos y parasitológicos.

Este sector está conformado por 10 bioquímicos, dirigidos por un Dr. en Cs. Biológicas, asignados en 5 salas aisladas una de otra y con equipamiento exclusivo en forma obligatoria para evitar contaminaciones. En cada una de estas salas se realizan:

- Extracción de ácidos nucleicos, manual bajo campana de flujo laminar o automatizada si el volumen de muestra es mayor.
- Preparación de la mezcla de reacción (*master mix*).
- Reacción en cadena de la polimerasa de punto final (PCR), cuantitativa (qPCR) o con previa retro transcripción (RT-PCR). Puede ser automatizada para detección de múltiples agentes infecciosos en paneles respiratorios, de meningitis, síndromes febriles y gastrointestinales.
- Electroforesis en geles de agarosa, en caso de realizar PCR.
- Citometría de flujo para cuantificación de la subpoblación linfocitaria que acompaña a cada determinación de carga viral de VIH.

Microbiología

Abarca las especialidades Parasitología, Micología y Bacteriología, convirtiéndose así en el segundo sector con mayor cantidad de profesionales bioquímicos, siendo un total de 6 por la mañana y 4 por la tarde, quienes trabajan en conjunto con 3 técnicos. Cada bioquímico está a cargo de una serie de determinaciones específicas de acuerdo al tipo de muestra sobre la cual se realizan, como por ejemplo urocultivos, coprocultivos, cultivos de anaerobios, gérmenes del tracto respiratorio, examen directo de materia fecal seriada o hisopado anal, entre otros.

Dentro de las muestras recibidas, son de destacar loquío, placenta, restos ovulares y LCR para cultivo bacteriológico, las tres provenientes de la Maternidad Martín; como así también los hisopados vaginales y anales para la búsqueda de *Streptococcus agalactiae* en embarazadas cursando entre la trigésimo sexta y trigésimo octava semana de gestación. Aparte de lo mencionado, también realiza en forma rutinaria cultivos de flujo vaginal, abscesos, secreciones uretral, ocular y ótica; semen, heridas, partes blandas, huesos, piel y faneras, esputo, exudado faríngeo, lavado bronco alveolar (BAL), aspirado traqueal y hemocultivos, hisopados nasal, anal y/o inguinal. A nivel de alta complejidad realiza la búsqueda de *Bordetella spp* y *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH), y seguimiento de portaciones en pacientes con fibrosis quística. Es de destacar que es un centro de referencia de Micología para la ciudad y el sur de la provincia.

Este sector cuenta con un sistema VITEK 2 COMPACT para antibiogramas automatizados e identificación, dos hemo cultivadores y una campana de bioseguridad de nivel 2 para el procesamiento de muestras potencialmente infectivas. Además de un equipo de identificación por espectrometría de masas con desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF), el cual utilizan para identificación rápida de bacterias y levaduras (prescindiendo de pruebas bioquímicas, y ya es utilizado por los demás hospitales de la Red Municipal y Provinciales de Rosario constituyendo la “Red MALDI-TOF”.

Inmunoanálisis

Este sector ejecuta gran cantidad de determinaciones y, por consiguiente, recibe un volumen importante de muestras, como así también presenta el mayor número de profesionales bioquímicos, siendo un total de 13, distribuidos en ambos turnos, con predominio en el turno mañana. También es el sector que posee el mayor número de equipos automatizados, capaces de efectuar inmunoensayos con diversos fundamentos: quimioluminiscencia (*Advia Centaur XP y XPT*), electroquimioluminiscencia (*Alinity i y Cobas e 801*), ELFA (*Minividas*), ELISA y fijación de complemento (*EVOLIS y Chorus TRIO*), y proteinograma por electroforesis e inmunofijación (*G26*). Además, cuenta con *kits* manuales para realizar hemaglutinación, inmunoblotting, ELISA e inmunofluorescencia, en sus formatos tanto directo como indirecto. Estas alternativas diagnósticas se combinan para cada determinación en función de los algoritmos estipulados, disponibilidad de reactivos y directivas provenientes de centros de referencia.

Los **inmunoanálisis de importancia epidemiológica** aquí realizados consisten en el diagnóstico de enfermedades bacterianas como sífilis, brucelosis; parasitarias como chagas y toxoplasmosis; y virales como VIH, hepatitis B y C, hantavirus, dengue, zika y chikunguña, fiebre hemorrágica argentina. Además, se realiza el dosaje de diversas drogas y metabolitos de interés como hormonas esteroideas, tiroideas, vitaminas, ácido vainillin mandélico, entre otros; y detección de autoanticuerpos para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes.

Bioquímica Clínica

Compuesta por dos sectores:

Hematología

Sector de suma importancia dada la elevada frecuencia de solicitudes médicas con peticiones de hemograma y hemostasia. El flujo de muestras inicia con la recepción de los pacientes oncológicos, que asisten a sus respectivas sesiones de quimio y/o radioterapia, con la finalidad de evaluar si pueden ser sometidos a tales tratamientos. A lo largo de la mañana se procesan las muestras de CE y, por la tarde, todas aquellas provenientes de APS y ADELAC. Para ello, dispone de tres equipos automatizados:

- *Cobas t 511*: para pruebas que evalúan el mecanismo hemostático: tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (KPTT), tiempo de trombina (TT), dosaje de fibrinógeno, actividad del factor V, *screening* y prueba confirmatoria de anticoagulante lúpico (test de Rusell) y monitoreo terapéutico con heparina por determinación cuantitativa de su actividad anti-Xa.
- *Sysmex XN-3000*: combinación de dos módulos y un extensor y tintor de frotis interconectados en serie. Los dos primeros funcionan como contadores hematológicos por citometría de flujo fluorescente, uno identifica y cuantifica las subpoblaciones leucocitarias y eritrocitarias, incluso sus formas inmaduras; el segundo adiciona el recuento y análisis estructural de plaquetas y, eventualmente de ser necesario, reticulocitos. Además, los dos módulos arrojan los restantes parámetros incluidos en un hemograma completo.

Por otra parte, el módulo de preparación y tinción de frotis recepciona aquellas muestras cuyo extendido podría proporcionar información clínica relevante y, por ende, son teñidas con May Grunwald y Giemsa para su posterior análisis microscópico en forma manual. Esto representa una gran ventaja en cuanto a tiempos de análisis reducidos y también respecto a la estandarización de la técnica de tinción, aunque el consumo de reactivos es

superior a la metodología manual y su aplicación se evalúa según disponibilidad de insumos.

- *VES-Matic Cube/30*: para obtener la velocidad de eritrosedimentación (VES).

Química Clínica

Concentra una enorme variedad de análisis de laboratorio, y en consecuencia el mayor volumen de muestras. Habitualmente recibe muestras heparinizadas del Banco de Sangre para la cuantificación de creatinina plasmática y cálculo de índice de filtración glomerular, tubos con EDTA para la determinación de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}), muestras sin anticoagulante para determinaciones serológicas, muestras anticoaguladas con fluoruro para la cuantificación de glicemia y muestras de orina fraccionadas previamente en preanalítico.

Resulta de suma importancia la verificación diaria de los controles de calidad para cada determinación, ya que se dispone de controles multivariantes, es decir para varias determinaciones, o univariantes que solamente permiten controlar una determinación en particular. Esta tarea es supervisada a primera hora del día por las dos bioquímicas que trabajan en el sector.

Está equipado con cuatro aparatos automatizados que permiten agilizar significativamente el trabajo y procesamiento del numeroso volumen de muestras recibidas diariamente.

- *Cromatógrafos líquidos de alta eficiencia (HPLC) "Variant I y II Turbo HbA_{1c} Kit - 2.0"* para la determinación de HbA_{1c}
- *Autoanalizador* de la serie *Cobas 6000* constituido por dos módulos c501 que realizan mediciones colorimétricas, potenciométricas e inmuno turbidimétricas para una multiplicidad de determinaciones rutinarias, tales como glicemia, perfil lipídico, hepático, renal, ionograma, entre otras. También es capaz de cuantificar ácido úrico, ácidos biliares, amilasa, hierro, calcio, magnesio, fósforo, proteínas totales, transferrina, albúmina, C3, C4, factor reumatoideo, IgG, IgM e IgA, bilirrubina (total, directa e indirecta), colinesterasa, 5'-nucleotidasa, CPK, microalbuminuria, HbA_{1c} y proteína C reactiva.
- *Cobas u 601* lectura digital del examen fisicoquímico de orina a través de tiras reactivas.
- *Iris iQ200 Elite* examen microscópico del sedimento urinario, con captura de micrografías y comparación simultánea de los elementos identificados en cada una con una base de datos interna que permite discernir entre hematíes, leucocitos, piocitos, células epiteliales, cilindros, cristales, mucus, levaduras y bacterias.

Además, cuenta con:

- *Kit* comercial para análisis de composición química de cálculos litíasicos.
- *Kit* rápido para detección de sangre oculta en materia fecal.

Guardia de la Maternidad Martín

Recibe todos los pedidos de laboratorio provenientes de la Maternidad Martín, tales como determinación de grupo y factor sanguíneo, análisis básicos, pruebas serológicas (mayoritariamente VDRL en cada mes del embarazo), estado ácido/base, análisis fisicoquímico de líquidos de punción. Cabe resaltar que también efectúa el dosaje de los siguientes fármacos: vancomicina, ácido valproico, fenobarbital, carbamazepinas y fenitoína. Cuenta con un autoanalizador de la línea cobas, un contador hematológico, un lector de tiras reactivas de orina y un equipo para análisis de medio interno, además de *kits* comerciales como el de VDRL y un microscopio para la observación de sedimentos urinarios y recuento de elementos en líquidos de punción.

Generalmente 2 bioquímicos están presentes durante la mañana, ya que hay más demanda, y a partir de las 14 hs solo queda uno de ellos hasta la mañana del día siguiente.

Área Post-analítica

Validación

En este sector, 2 a 4 bioquímicas se encargan de firmar digitalmente, los informes de resultados. Para ello deben controlar que esté realizada la validación previa de cada área analítica, no haya incoherencias o resultados patológicos no ratificados porque este es el último punto de control que permite corregir errores no subsanados en auditoría. También es un área de contacto con médicos y referentes de centros de salud para la resolución de problemas y la comunicación de resultados alarmantes que requieran acción clínica inmediata.

En cuanto a los informes, una vez firmados, se emiten de manera virtual. Sólo se imprimen aquellos retirados personalmente en admisión y los de los centros de APS que poseen resultados alterados (son enviados mediante la Red de móviles al día siguiente).

Gestión de calidad

El laboratorio bioquímico del CEMAR implementa una política de calidad que responde a la Dirección de Bioquímica, en pos de sostener y mejorar de manera continua su Sistema de Gestión de Calidad en todos los procesos, aplicando normas ISO 9001:2015. El laboratorio es auditado anualmente por parte del Comité de Certificación del Instituto Argentino de

Normalización y Certificación (IRAM) y ha sido el primer laboratorio público del país en recibir la certificación internacional en el año 2010. Además, las distintas áreas analíticas adhieren a diversos programas de calidad externos de centros de referencia nacionales, tales como la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS Malbrán).

PERSPECTIVAS Y CONCLUSIÓN

Por lo desarrollado anteriormente es evidente que este laboratorio centraliza las prestaciones analíticas de una amplia variedad de efectores e institutos de salud de Rosario y el sur de Santa Fe, lo que lo posiciona en un lugar destacado frente a otros laboratorios estatales de la provincia y del país, tanto por la magnitud del volumen de muestras que recibe, como por la tecnología con la que cuenta y la eficiencia con la que entrega los resultados.

Esta centralización es el pilar que permite: el aprovechamiento máximo de los recursos humanos y materiales, la unificación de criterios y estandarización de técnicas diagnósticas para todos los pacientes que se atienden en los centros de APS, un riguroso control de calidad debido al volumen de determinaciones. De esta manera se asegura la celeridad en la obtención de resultados fiables y clínicamente significativos para el correcto tratamiento de los pacientes. Sin embargo, este modelo también presenta algunas desventajas como la falta de interdisciplinariedad al perder el contacto con profesionales de la salud; demanda una logística adaptable a cambios continuos, imprevistos y errores humanos en múltiples procesos como la recolección, transporte, conservación e identificación de muestras derivadas; y como está sucediendo actualmente, su operatividad se entorpece por falta de insumos.

A pesar de sus limitaciones, la propia jefa del laboratorio reconoce que la implementación del laboratorio bioquímico del CEMAR ha generado un impacto positivo general en la población, respondiendo a demandas sanitarias previamente insatisfechas, incrementando la detección temprana de diversas enfermedades tratables, cuidando la salud de los sectores más desprotegidos de la población rosarina y de alrededores; y favoreciendo la formación y capacitación de profesionales bioquímicos.

BIBLIOGRAFÍA

- La Capital (2019, 2 agosto). “El Cemar cumplió 20 años y hubo festejos”. *La Capital*.
<https://www.lacapital.com.ar/la-ciudad/el-cemar-cumplio-20-anos-y-hubo-festejos-n2517209.html#:~:text=El%20Cemar%20funciona%20como%20un,los%20hospitales%20de%20mayor%20complejidad.>
- Mascardi, J. (2021, 20 agosto). “Por qué el modelo de salud pública de Rosario se extendió a toda la provincia de Santa Fe y se convirtió en referente en el país”. *Redacción*.
<https://www.redaccion.com.ar/salud-publica-el-ejemplo-de-rosario/>
- Material didáctico provisto por el Jefe del Departamento de Coordinación de Gestión, Bioq. Héctor Daniel Elías de la Dirección de Bioquímica, secretaria de Salud Pública de la Municipalidad de Rosario.
- Rosario Noticias (2019, 30 julio). “El Cemar celebró 20 años de excelencia en la salud pública”. *Rosario Noticias*
<https://rosarionoticias.gob.ar/page/noticias/id/215791/title/El-Cemar-celebr%C3%B3-20-a%C3%B1os-de-excelencia-en-la-salud-p%C3%ABlica>
- Rosario Noticias (2022, 7 julio). “Los laboratorios municipales recibieron la Norma ISO 9001:2015”. *Rosario Noticias*
<https://rosarionoticias.gob.ar/page/noticias/id/354661/title/Los-laboratorios-municipales-recibieron-la-Norma-ISO-9001%3A2015>
- Santa Fe Provincia (2019, 30 julio). “Lifschitz participó en Rosario del 20° aniversario del Cemar”. *Santa Fe Noticias* <https://www.santafe.gob.ar/noticias/noticia/266005/>

TF07

Alumna: Harriet, Celeste

Tutor Académico: Sorribas, Aranza

Lugar de realización: Hospital de Niños Víctor J. Vilela

Póster



FIBROSIS QUÍSTICA (FQ) : EL ROL DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO, SEGUIMIENTO Y TRATAMIENTO



Harriet, C.¹; Folio, M.²; Bossoletti, G.²; Ernest, A.²; Pascual A.²; Rico M.²; Sempio R.²; Galli, V.²; Larini, S.²; Schiavo J.²; Zepa S.²; Sorribas, A.¹.

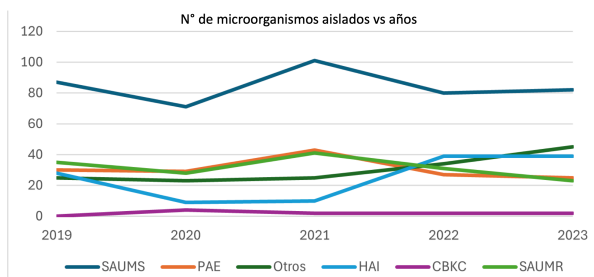
¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² Hospital de Niños "Víctor J. Vilela". Municipalidad de Rosario

Introducción: La fibrosis quística es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva que causa problemas en el transporte de iones cloruro, bicarbonato y sodio en las células epiteliales. Esto se produce por alteraciones en el gen CFTR lo que genera una proteína defectuosa. Estas mutaciones provocan secreciones espesas y pegajosas en el organismo, especialmente en el aparato respiratorio, dificultando la limpieza del moco y favoreciendo infecciones bacterianas.

Diagnóstico y seguimiento: Pesquisa neonatal, test del sudor, estudio genético
Para evaluar la insuficiencia pancreática: Elastasa y test de Van de Kamer.

Objetivo: Determinar la microbiología de la colonización e infección del paciente FQ en infecciones respiratorias.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo de los microorganismos aislados en muestras de esputo de pacientes pediátricos de 5 a 10 años con FQ en el Hospital de Niños "Víctor J. Vilela" entre 2019 y 2023.



Resultados: Se obtuvo que SAUMS fue la bacteria que más se aisló y si bien en algunos períodos disminuyó, siempre se mantuvo por encima de las demás, mientras que SAUMR, HAI Y PAE quedan por detrás. Esto coincide con la bibliografía consultada.

Conclusión: La participación del laboratorio bacteriológico es crucial en el diagnóstico temprano de la colonización en pacientes con FQ, ya que los cultivos, antibiogramas y Maldi-TOF permiten una respuesta rápida y correcta para el tratamiento antimicrobiano, mejorando la calidad de vida del paciente.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29317>

Monografía

FIBROSIS QUÍSTICA

El rol del Laboratorio en el diagnóstico, seguimiento y tratamiento.

- **Alumna:** Harriet, Celeste.
- **Tutor:** Sorribas, Aranza
- **Institución:** Hospital de Niños Víctor J. Vilela.

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva, causada por mutaciones en el gen CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) que codifica para una proteína transmembrana que regula el transporte de iones cloruro a través de las células epiteliales.

Las variantes en el gen CFTR provocan que la proteína se vuelva disfuncional. Si la proteína no funciona correctamente, se ve interrumpido el movimiento de cloruro, bicarbonato y sodio, dando lugar al espesamiento y al aumento de la viscosidad de las secreciones de todo el organismo, en el caso del aparato respiratorio, se impide el deslizamiento del moco a través del árbol traqueo bronquial, lo que conlleva a una acumulación de las secreciones mucosas, espesas y pegajosas proporcionando un ambiente favorable para el crecimiento de bacterias y hongos. Por lo que las manifestaciones clínicas van desde insuficiencia pancreática exocrina, enfermedad pulmonar crónica y una alteración de la concentración de electrolitos en el sudor.

El **diagnostico** precoz se realiza, en recién nacidos asintomáticos detectados mediante la estrategia de:

A- Pesquisa neonatal y en etapas pediátrica mediante la expresión clínica.

La misma es de carácter obligatorio en todas las clínicas, instituciones u hospitales públicos o privados (Ley 27552, artículo 12).

Se realiza con muestra de sangre entera en papel de filtro entre las 24 hs y los 7 días de vida. Se determina la concentración sérica de Tripsina Inmuno Reactiva (TIR), la misma está elevada en los afectados debido a la obstrucción parcial de los conductos pancreáticos determinando un anormal drenaje en intestino.

B- Test del sudor, método por excelencia, es preciso, inocuo y de fácil realización. Se necesitan dos test de sudor patológicos y la presencia de síntomas y/o antecedentes familiares para establecer el diagnóstico.

C- Estudio genético es fundamental contar con el diagnóstico de FQ, ya que la sospecha impide, en caso de encontrar mutaciones, asegurar que estemos en presencia de un afectado. Se necesita detectar una variante causante en homocigosis o dos variantes en heterocigosis compuesta. La mutación más frecuente es la delección de tres pares de bases ($\Delta F508$), que resulta en la pérdida del aminoácido fenilalanina en la proteína CFTR.

El **tratamiento** debe ser precoz y personalizado, se debe tener presente el control de las infecciones, particularmente en la primera infección del tracto respiratorio, la colonización por gérmenes bacterianos más frecuentes son: *Staphylococcus aureus* (SAU) y *Haemophilus influenzae* (HAI), *Pseudomonas aeruginosa* (PAE) con distintos morfotipos (mucoide, no mucoide) es uno de los microorganismos más relevantes y causa principal del deterioro broncopulmonar progresivo, que sumado al tratamiento antimicrobiano que estos pacientes reciben se agrava la colonización con mayor frecuencia de bacilos gram negativos no fermentadores, entre los que destacan *Stenotrophomonas maltophilia* (SMA), *Achromobacter spp.* (AXB) y Complejo *Burkholderia cepacia* (CBC) (este último de suma importancia para el trasplante pulmonar). El tratamiento antibiótico va a depender del o de los microorganismos aislados.

La fisioterapia respiratoria pretende disminuir las infecciones pulmonares y mejorar la función pulmonar. Las técnicas deben realizarse una vez al día en fases estables de la enfermedad, y hasta tres veces en agudizaciones, separadas de las comidas al menos dos horas en los lactantes. Algunas de las técnicas manuales comprenden: vibraciones sobre el tórax, presiones torácicas, presiones abdominales y estimulación de la tos. Estas técnicas ayudan a limpiar los bronquios y sirven para mejorar la ventilación ya que mejoraran la entrada de aire en el pulmón.

También, es importante el manejo nutricional, se recomienda una nutrición adecuada y la prevención de la deshidratación. Se aconseja una dieta hipercalórico rica en grasas saludables con suplementos de vitaminas A, D, E y K; y de elementos, como fluoruro y zinc.

En el Hospital de Niños "Víctor J. Vilela" se realiza el diagnóstico y desde el laboratorio se realiza el seguimiento del paciente con FQ desde el punto de vista bacteriológico.

CLINICO:

Para comenzar a estudiar un paciente con sospecha de FQ, se comienza por el sector de gastroenterología quienes le realizan el test del sudor, determinación cuantitativa mediante el procedimiento de Gibson y Cooke (colorimétrico).

Una FQ confirmada comprende determinaciones de cloruro en sudor ≥ 60 mmol/L o identificación 2 mutaciones causantes de FQ en trans y prueba del

sudor ≥ 30 mmol/L.

El fundamento teórico comprende la estimulación de las glándulas sudoríparas por pilocarpina (estimulante de la vía colinérgica). Mediante iontoforesis se genera una diferencia de potencial entre dos zonas contiguas de la piel que permite el ingreso de sustancias cargadas eléctricamente. Antes de comenzar con el procedimiento, se deben eliminar todos los electrolitos que puedan estar presentes en los materiales para evitar el agregado de los mismos exógenamente.

Se coloca en el brazo una gasa embebida en solución de pilocarpina sobre la que se coloca un electrodo y unos centímetros más arriba, se coloca otra gasa con H_2SO_4 sobre la que se coloca el otro electrodo. Se comienza a pasar corriente por 5 a 7 minutos. Pasado dicho tiempo, se retiran los bornes y se coloca una gasa con film. Luego de 40 minutos, el sudor se evidenciará en un plástico de recolección, que fue previamente pesado, como pequeñas gotitas y por diferencia de pesada se calcula el peso de sudor recolectado.



Figura 1. Arriba a la izquierda: H_2SO_4 y pilocarpina. Abajo a la izquierda: Bornes embebidos con H_2SO_4 y pilocarpina. En el medio: gasas, papel film, agua destilada, alcohol y recolector plástico.



Figura 2. Procedimiento operativo del Test del sudor mediante la técnica original de Gibson y Cooke.

Una vez diagnosticado, el seguimiento del paciente es derivado al Servicio de Neumología.

Del 85% a 90% de los pacientes con FQ tienen insuficiencia pancreática (IP) exocrina que se manifiesta con deposiciones abundantes, fétidas con características grasas (hipocoloreadas, brillantes, aceitosas).

Para evaluar la IP exocrina en el laboratorio se utiliza el test en heces de ScheBo® Elastasa 1 (E1), que es el gold standard en técnicas no invasivas. La E1 pancreática es estable durante su tránsito intestinal y absolutamente específica del páncreas por esta razón la concentración de la misma en heces refleja la función pancreática exocrina. La misma está basada en anticuerpos monoclonales.

Para cuantificar las grasas excretadas se realiza el test de Van de Kamer. Es una prueba que se basa en recolectar 3 muestras de 24hs de materia fecal durante 72hs. Es una prueba antigua, pero es considerada también un gold standard.

Ambas pruebas se utilizan para diagnóstico y seguimiento del tratamiento.

BACTERIOLÓGICO

El conocimiento microbiológico de la colonización e infección del paciente FQ es determinante para establecer el seguimiento continuo en este tipo de enfermos, constituye una práctica clínica adecuada e imprescindible para el control y tratamiento.

Las infecciones respiratorias en estos pacientes están asociadas a un número limitado y específico de bacterias, como se mencionó en el párrafo anterior.

El seguimiento microbiológico incluye cultivo de secreciones respiratorias y el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos de los patógenos aislados.

Las muestras son:

A- Espudo expectorado o secreciones bronquiales

B- En quienes no expectoran puede obtenerse un cultivo de exudado de fauces tosido.

C- Lavado bronco alveolar (BAL)/Mini BAL.

La muestra A debe ser recolectada en recipiente estéril, rotulada con el diagnóstico de la enfermedad y rápido envío o se debe almacenar a 4°C y posterior procesamiento dentro de las 24 h.

El procedimiento incluye:

Examen microscópico	Siembra
-Coloración de Gram. -Baciloscopía (a pedido).	1.agar sangre / 2. agar chocolate / 3. agar Chapman /4. agar cetrimida /5. agar selectivo para Complejo Burkholderia. Cepacia (CLDE con ATB)/6.agar CLDE 2- se incuba en estufa en lata en microaerofilia a 35°C. 1-3-4-5-6- se incuban a 35° C en aerobiosis.

Identificación y sensibilidad: La identificación se realiza de todos los gérmenes por Maldi-TOF.

+ SAU; CBC; PAE: sensibilidad en Agar MH en estufa de 35°C durante 18 hs. con los antimicrobianos correspondientes a que cada cepa.

+ HAI: sensibilidad en HTM (Haemophilus test Medium) en estufa a 35°C durante 18 hs.

Informe: El informe del laboratorio de bacteriología deben incluir la identificación, y en aquellos que corresponda el recuento (BAL, Mini BAL) y el antibiograma de todos los microorganismos potencialmente patógenos aislado de distintos tipos de muestras.

Se realizó un estudio descriptivo de los microorganismos aislados en los pacientes FQ en las muestras de esputos en los años 2019 al 2023.

Year	SAUMS	PAE	Otros	HAI	CBKC	SAUMR
2019	87	30	25	28	0	35
2020	71	29	23	9	4	28
2021	101	43	25	10	2	41
2022	80	27	34	39	2	31
2023	82	25	45	39	2	23

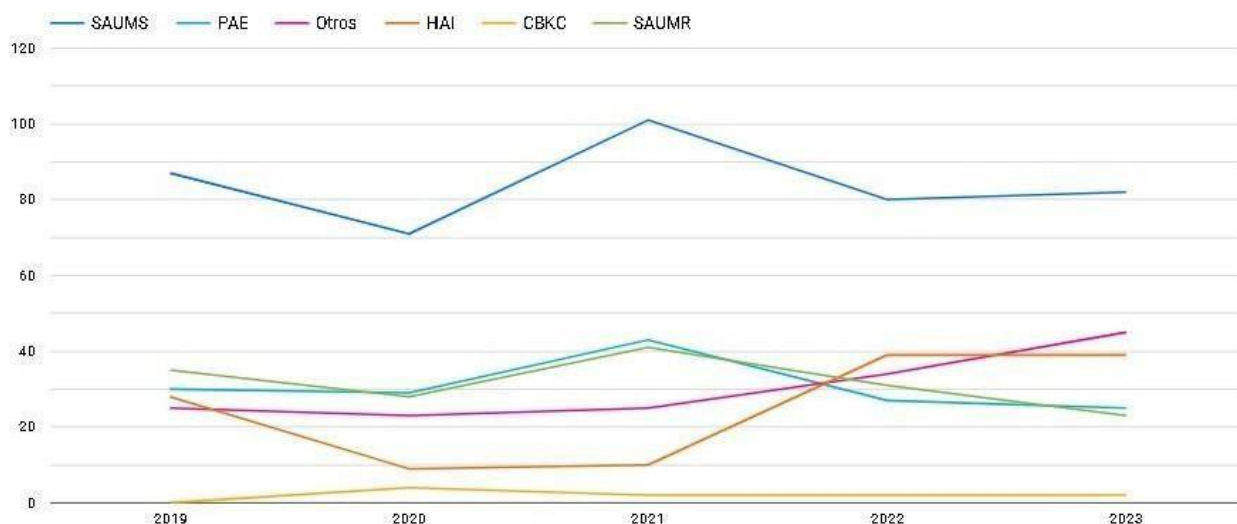


Figura 3. Prevalencia de distintos microorganismos aislados en muestras durante los últimos 5 años.

* SAUMS y PAE: Fueron las bacterias que más se aislaron al inicio del estudio, pero mientras que la presencia de PAE disminuyó con el tiempo SAUMS mantuvo su tendencia.

* HAI, SAUMR y OTROS: Se detectaron en menor medida al inicio del estudio, y su presencia disminuyó con el tiempo.

* CBKC: Fue la bacteria que menos se aisló durante todo el período analizado.

Se puede concluir que se obtuvieron resultados semejantes a la bibliografía consultada, ya que SAUMS fue la bacteria que más se aisló y si bien en algunos períodos disminuyó, siempre se mantuvo por encima de las demás, mientras que SAUMR, HAI Y PAE quedan por detrás.

Cabe destacar la importancia de la participación del laboratorio bacteriológico en el diagnóstico temprano de la colonización del paciente con FQ ya que mediante los distintos análisis que se realizan (cultivos, antibiograma y Maldi-TOF) aportan una rápida y correcta respuesta para el tratamiento antimicrobiano, mejorando así la calidad de vida del paciente.

En los últimos años se ha observado, a nivel mundial, un importante aumento en la media de la edad de sobrevida, como resultado del diagnóstico precoz, el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad, el tratamiento adecuado basado en la fisioterapia, la formación de equipos interdisciplinarios, integrados por neumonólogos, kinesiólogos, gastroenterólogos, nutricionistas, bioquímicos, enfermeros, los cuidados en centros de FQ, y las medidas de control de la infección.

En nuestro país, el diagnóstico se realiza, con mayor frecuencia, en recién nacidos asintomáticos detectados mediante la pesquisa neonatal y en etapa pediátrica y del adulto ante la expresión clínica de síntomas y signos. No obstante, todavía existe un grupo de pacientes en los que el diagnóstico se realiza de forma tardía.

Las investigaciones han ayudado a entender mejor esta enfermedad y a desarrollar nuevos tratamientos. Con los avances en farmacología y genética, los niños que nacen con esta patología tienen una esperanza de vida más larga y una mejor calidad de vida que en el pasado.

Actualmente, los tratamientos para la FQ se basan en intentar mejorar la sintomatología. Los mismos se basan principalmente en corregir las anormalidades estructurales y funcionales del gen CFTR. Entre los compuestos que se utilizan destacan los moduladores del CFTR, que son

capaces de corregir el defecto básico de la FQ, el que ocurre en la proteína. Uno de los principales problemas a resolver en el tratamiento de la FQ es la eliminación de la biopelícula ya que esta estructura dificulta la acción del antimicrobiano.

Uno de los principales desafíos será el desarrollo de formulaciones liposomales adecuadas que a través de su composición favorezcan la destrucción de esta biopelícula.

Los liposomas pueden fabricarse a base de lípidos biocompatibles, similares a los que componen la membrana y el surfactante pulmonar. Estas formulaciones pueden ser aerosolizadas fácilmente y son bien captadas por los pulmones, permitiendo una retención más prolongada. Algunas de las formulaciones se encuentran ya comercializadas y otras en fase de investigación.

La Nanotecnología se ofrece como alternativa al tratamiento de la FQ por su capacidad de administrar nanotransportadores por vía pulmonar y liberar de forma localizada y sostenida su contenido.

BIBLIOGRAFIA:

- https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2340-98942020000200002

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7103330/>

-Guía diagnóstica y tratamiento en pacientes con fibrosis quística.

Actualización 2021. Sociedad Argentina de Pediatría, Subcomisiones, Comités y Grupos de Trabajo. Dr. Fernando Rentería.

-Procedimiento operativo del Test del sudor. Modificado 7/10/23 por Lic. María Cecilia Luna.

-Los tres pilares del tratamiento en fibrosis quística.

- <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-27552-340915/texto>

- HONORABLE CONGRESO DE LA NACION ARGENTINA. 2020-08-11

-MANEJO ACTUAL DE LA FIBROSIS QUÍSTICA. DR. ÓSCAR FIELBAUM (1).
Departamento de Pediatría. Clínica Las Condes. Santiago, Chile.

-Fibrosis Quística: tratamiento actual y avances con la nanotecnología. Ma Oliva Guerra-Morillo, Antonio M. Rabasco-Álvarez, María Luisa González-Rodríguez.2020.

Alumna: Ragni, Enzo Nahuel

Tutor Académico: Dalmaso, Hernan

Lugar de realización: Centro de Referencia de Micología (Ceremic) - Hospital Provincial del Centenario

Póster



ASPERGILOSIS PULMONAR CRONICA EN UN PACIENTE ASMÁTICO POST-COVID19

Ragni, E.; Dalmaso, H.
CEREMIC (Centro de Referencia de Micología) Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas- Universidad Nacional de Rosario.
E-mail: enzoragni@gmail.com



Introducción

Se define a la aspergilosis como el conjunto de enfermedades causadas por hongos del género *Aspergillus*, las cuales varían desde cuadros tipo alérgicos a infecciones diseminadas que ponen en riesgo la vida del paciente. Estos se encuentran presentes en el medio ambiente, siendo inhalados constantemente. La inmunidad innata es suficiente para eliminarlos. Pero en pacientes con compromiso inmunológico, este proceso no ocurre eficientemente y sobreviene la infección.

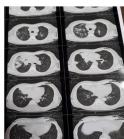
Aspergilosis pulmonar crónica

Se caracteriza por la colonización fúngica continua y la inflamación crónica de los pulmones. Los conidios de *Aspergillus* inhalados pueden establecerse en las vías respiratorias, y en individuos susceptibles, pueden causar una respuesta inflamatoria persistente. Esto lleva a la formación de lesiones y cicatrices en los tejidos pulmonares con posterior diseminación hacia el torrente sanguíneo en caso de inmunosupresión. Los síntomas de la aspergilosis pulmonar crónica pueden variar, pero comúnmente incluyen tos crónica, expectoración de esputo con sangre, dificultad para respirar, fatiga y pérdida de peso. Estos síntomas pueden persistir durante semanas o meses y empeorar con el tiempo si no se tratan adecuadamente.

Caso clínico

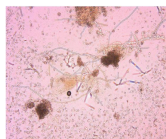
Paciente masculino de 60 años de edad, que consulta por tos crónica, cansancio, fiebre, falta de apetito y aumento de secreciones bronquiales. Como enfermedad de base, refiere ser asmático desde la niñez y tres meses previos cursó una neumonía por COVID-19. En la primera consulta médica se interpreta como un cuadro alérgico iniciándose tratamiento con corticoides y claritromicina por cuatro meses. Al no presentar mejoría, se solicita placa Rx, TAC y estudio micológico en esputo seriado.

Placa radiográfica



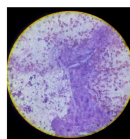
TAC de tórax donde se evidencia un infiltrado pulmonar.

Examen directo en fresco



Examen directo de esputo (40X) presenta hifas tabicadas hialinas con ramificaciones dicotómicas en 45°.

Examen directo con tinción



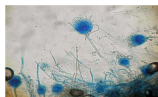
Coloración de May Grünwald-Giemsa (100X) en esputo con presencia de hifas tabicadas.

Cultivo



Siembra en medios SbgIul, SbcI y Mycosel a 28°C. En SbgIul y ASCC a 37°C. Al cabo de 72 hs se observó desarrollo de colonias algodonosas marrones.

Examen directo de colonias



Directo de colonias con Gueguen donde se observan hifas tabicadas y estructuras compatibles con *Aspergillus*.

MALDI-TOF

La cepa aislada es enviada al Centro de Emergencias Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR) donde se le realizó la identificación por MALDI-TOF confirmando que se trataba de un *Aspergillus terreus*.

Tratamiento

Se le inició tratamiento con itraconazol oral por tres meses, viéndose una importante mejoría en su cuadro clínico.

Conclusiones

El caso expuesto pone en evidencia la importancia de un diagnóstico temprano correcto y la relevancia en la formación de profesionales de la salud para la detección de micosis tanto superficiales como profundas. Al día de hoy, sigue siendo una rama de la microbiología oscura y muy resistida al conocimiento. Dado por la casi nula formación académica impartida, así como también por no contar con herramientas de diagnóstico rápidas y precisas.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29318>

Monografía



ASPERGILOSIS PULMONAR CRÓNICA EN UN PACIENTE ASMÁTICO POST-COVID

Alumno: Enzo Nahuel Ragni

Tutor: Hernán Dalmaso

Área: Micología (SIEBE)

Práctica Profesional Obligatoria

Año 2024

Marco Teórico

Aspergilosis

Introducción

Entre los hongos considerados oportunistas se encuentran las especies del género ***Aspergillus***; género que crece en importancia desde 1729, año en el que fue descrita la primera patología humana.

Presentan una gran versatilidad metabólica y una gran capacidad para dispersar sus conidios, dado que su cabeza conidial puede producir más de 500.000. Estos al ser inhalados en forma permanente por el hombre, ya que se encuentran presentes en el medio ambiente. Son cosmopolitas y ubicuos, ocupando el primer o segundo lugar dentro de los hongos contaminantes del ambiente. Juegan un rol ecológico importante en los ciclos del Carbono y Nitrógeno por lo que pueden ser aislados de cualquier sustrato que contenga materia orgánica y humedad como por ejemplo del suelo, restos vegetales en descomposición, alimentos etc.

Como patógeno se presentan en formas diferentes formas:

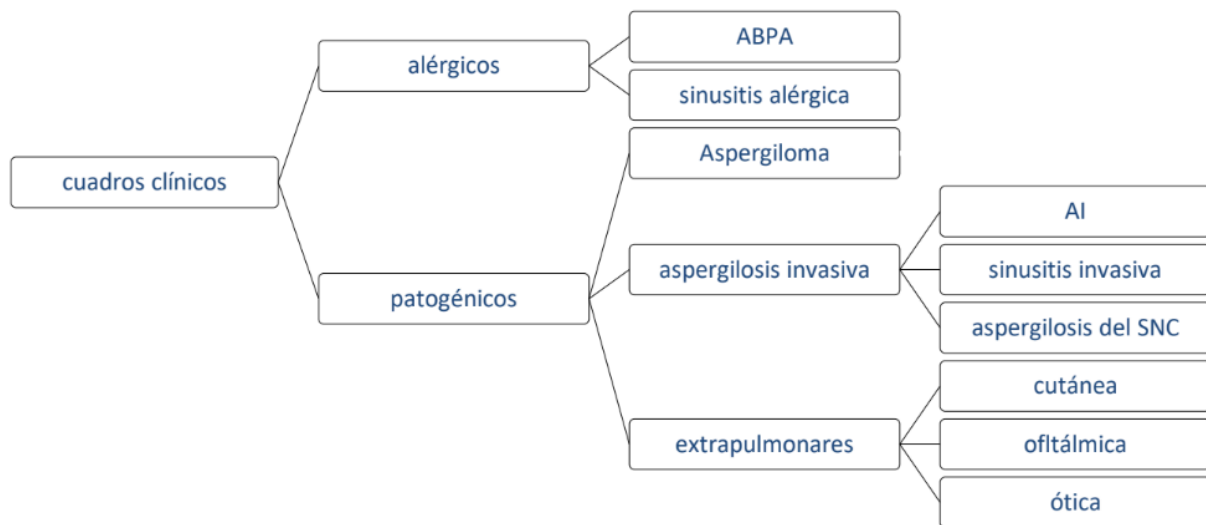
- Como patógeno humano y animal
- Como productores de micotoxinas
- Como contaminantes de cultivos, productos alimenticios, cueros, tejidos, etc., produciendo una disminución del valor comercial de los mismos.

Se define a la aspergilosis al conjunto de enfermedades producidas por hongos del género ***Aspergillus***, las cuales varían desde cuadros de tipo alérgico a infecciones generalizadas que ponen en peligro la vida del paciente. Estos se encuentran presentes en el aire, en el polvo de habitaciones, en el ambiente, etc. siendo inhalados constantemente. La inmunidad innata es suficiente para eliminarlos. Las células epiteliales de la vía aérea y los macrófagos alveolares reconocen antígenos fúngicos de la pared y secretan mediadores inflamatorios que favorecen el reclutamiento de neutrófilos y la activación de la inmunidad celular, paso determinante en la eliminación de conidios e hifas y en la constitución de la respuesta inmunológica. En pacientes con compromiso inmunológico este proceso no ocurre eficientemente y sobreviene la infección.

Cuadros clínicos

Pueden ser alérgicos o patogénicos:

- En la enfermedad alérgica no se observa invasión del micelio en el tejido pulmonar. Se pueden aislar formas fúngicas en los cultivos y los síntomas del paciente disminuyen con la administración de corticoides.
- En la enfermedad patogénica, los agentes causales, hifas y propágulos fúngicos invaden y producen una inflamación de los tejidos infectados.



Aspergilosis Pulmonar Crónica

Se caracteriza por la colonización fúngica continua y la inflamación crónica de los pulmones. Los conidios de ***Aspergillus*** inhalados pueden establecerse en las vías respiratorias, y en individuos susceptibles, pueden causar una respuesta inflamatoria continua. Esto lleva a la formación de lesiones y cicatrices en los tejidos pulmonares.

Dentro de los factores de riesgos podemos encontrar que incluyen la inmunosupresión, como la provocada por la terapia inmunosupresora o el VIH/SIDA, siendo estos pacientes los más frecuentemente afectados, y también otras enfermedades pulmonares preexistentes como la fibrosis quística, bronquiectasia, neumonías, y afecciones que comprometen la integridad de la barrera mucociliar, como el tabaquismo crónico.

Los síntomas de la aspergilosis pulmonar crónica pueden variar, pero comúnmente incluyen tos crónica, expectoración de esputo con sangre, dificultad para respirar, fatiga y pérdida de peso. Estos síntomas pueden persistir durante semanas o meses y empeorar con el tiempo si no se tratan adecuadamente. El tratamiento suele incluir el uso de antifúngicos como voriconazol o itraconazol para controlar la infección y reducir la inflamación pulmonar. Aunque en determinados casos puede requerirse de una intervención quirúrgica para extirpar tejido dañado o infectado.

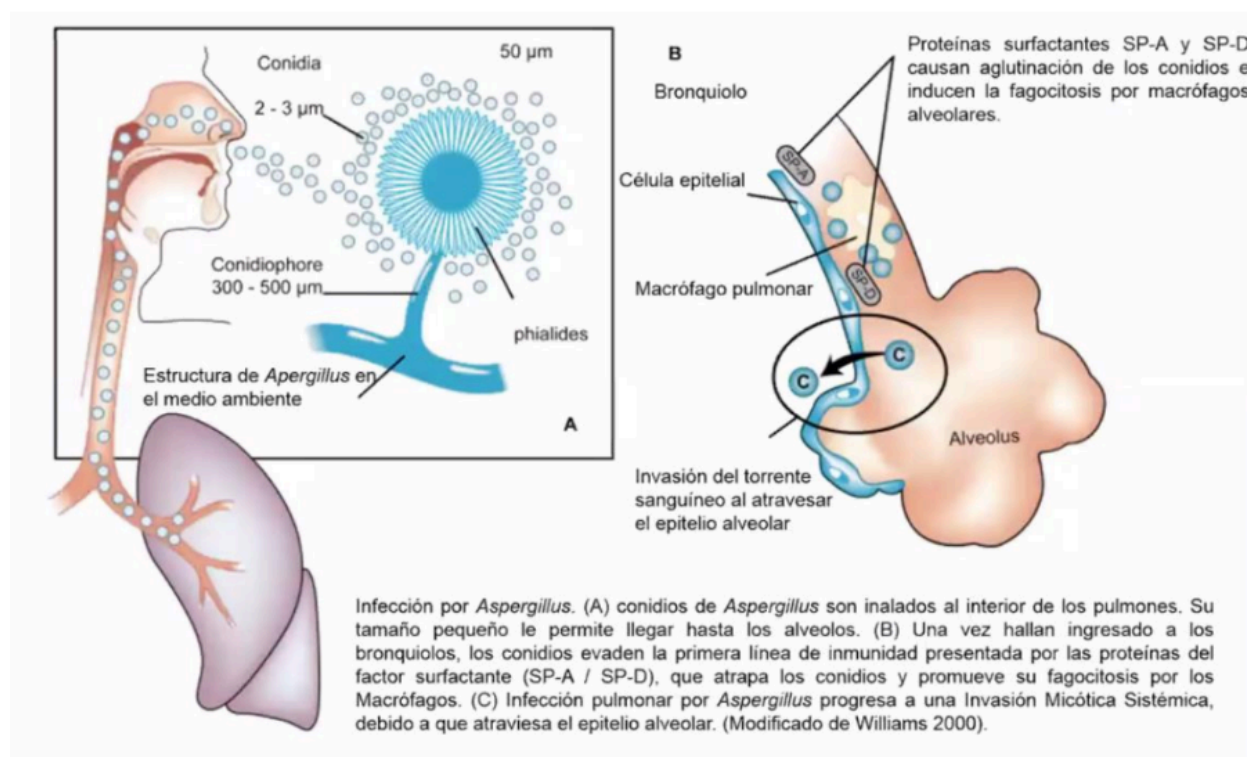
En cuanto al diagnóstico, suele requerir de una serie de estudios que incluyen análisis de esputo o BAL para detectar la presencia de *Aspergillus*, estudios de imagen como radiografías de tórax o tomografías computarizadas (TC) de los pulmones, y pruebas de función pulmonar para evaluar la capacidad respiratoria del paciente.

Dentro de los cuadros patogénicos encontramos a la *Aspergilosis Pulmonar Invasiva (API)* la cual se considera como la forma más grave de la aspergilosis pulmonar y es usualmente fatal. Se presenta entre 5-15% de pacientes inmunocompetentes. Causa la muerte entre el 57 y 100% de los casos dependiendo de la celeridad en el diagnóstico y tratamiento, de la asociación de dos o más factores de riesgo, de la enfermedad de base y del tiempo y tipo de inmunosupresión. Se la puede definir como una neumonitis necrotizante con invasión de los vasos sanguíneos secundaria a la colonización del parénquima pulmonar. Se presenta con fiebre, nódulos o infiltrados pulmonares con mala respuesta al tratamiento antibacteriano. Las manifestaciones clínicas se observan de diferentes maneras: neumonía, bronconeumonía necrotizante, hemoptisis, infarto hemorrágico, abscesos pulmonares múltiples o únicos, invasión de las estructuras torácicas continuas para posterior diseminación.

El hongo puede también diseminarse a través de la pleura hacia el espacio pleural, músculos intercostales o hacia pericardio y miocardio que puede llevar al infarto. En personas con graves alteraciones del sistema inmunológico, el hongo puede llegar al torrente sanguíneo desde los pulmones y diseminar al cerebro y a otros órganos, como ojos, corazón, riñones y piel. Normalmente, la diseminación tiene mal pronóstico, ya que suele conllevar una grave afectación del enfermo, con gran riesgo para su vida. En algunos casos, la afectación cutánea

permite que el diagnóstico se realice antes, por lo que puede iniciarse un tratamiento específico de forma precoz.

Los síntomas son fiebre, tos, disnea, dolor pleural, infiltrados pulmonares y hemoptisis (debido a la invasión de hifas en la capa elástica media de la pared de los vasos pulmonares y bronquiales dando como resultado un aneurisma que al romperse causa hemorragias que pueden resultar fatales).



Presentación del caso clínico

Motivo de consulta:

Paciente de sexo masculino de 60 años de edad, consulta por tos crónica, cansancio, fiebre, falta de apetito y aumento de secreciones bronquiales.

Antecedentes:

Como enfermedad de base refiere ser asmático desde la niñez. Tres meses previos a la consulta curso una neumonía por COVID19.

Diagnóstico:

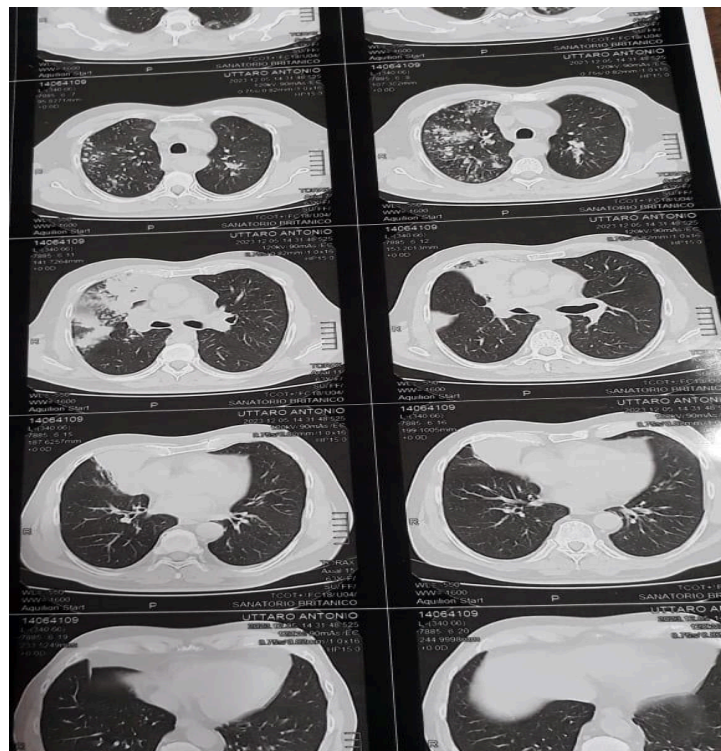
En la primera consulta médica no se le realizan estudios específicos, como por ejemplo una placa de tórax. Se lo interpreta como un cuadro alérgico, iniciándose un tratamiento con corticoides. Luego de un mes de tratamiento, el paciente no presenta mejoría clínica.

Realiza una nueva consulta médica, en donde se le inicia tratamiento con Claritromicina indicándose una sola toma día por medio, debido a que se continua considerando el cuadro como alérgico. El ATB indicado de esta forma tendría un efecto anti inflamatorio de las vías aéreas. Finalizado el tratamiento por cuatro semanas, presenta una leve mejoría, para luego volver a repetir el cuadro inicial.

Ante esta situación, el paciente decide consultar con un infectólogo.

Estudios

En primer lugar, el infectólogo solicita una placa radiográfica, y posteriormente una tomografía las cuales muestran algunas anomalías, evidenciando un infiltrado pulmonar importante.



Diagnóstico de laboratorio:

Se solicita un laboratorio de rutina, donde se observan resultados normales, exceptuando el hemograma y la VES:

Hemograma:

Eritrocitos	5.29	M/mm3	4.35 - 5.65
Hemoglobina	15.2	g/dL	13.2 - 16.6
Hematocrito	45	%	38 - 49
Leucocitos	12050	/mm3	3400 - 9600
Neutrófilos en cayado	0.0	%	0.0 - 2.0
Neutrófilos	58	%	45 - 65
Eosinófilos	13	%	0 - 4
Basófilos	1	%	0 - 1
Linfocitos	22	%	25 - 35
Monocitos	5	%	0 - 12
Velocidad de eritrosedimentación	70	mm/ 1ª hs	1 - 15

Se observa en el hemograma un aumento en los eosinófilos, que sumado a la VES elevada, nos está dando indicios relevantes de la infección subyacente del paciente. El resto de las pruebas bioquímicas presentaron valores normales.

Ante la evidencia que presentan los estudios por imágenes, se prosigue con un laboratorio micológico. Donde se le solicita un Lavado Bronco Alveolar, el cual se rehúsa a hacer, por lo que se opta con una muestra de Esputo arrojando los siguientes resultados:

Examen directo: Se observan hifas tabicadas hialinas, con ramificaciones dicotómicas.

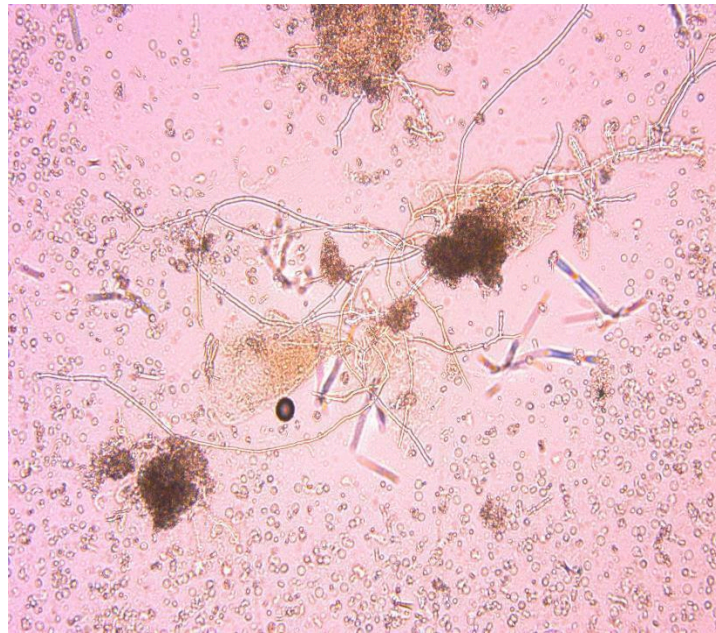


Imagen en fresco (100x)

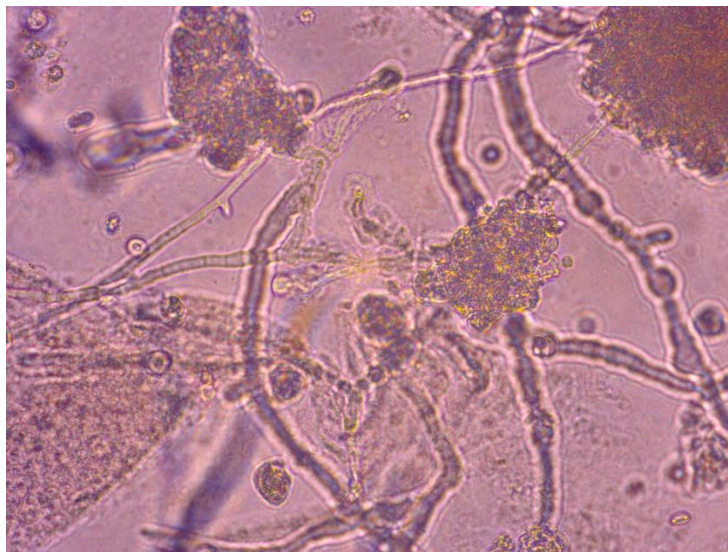


Imagen en fresco (400x)

Tinción de May Grunwald - Giemsa: arroja resultados similares: Hifas tabicadas con ramificaciones a 45°.

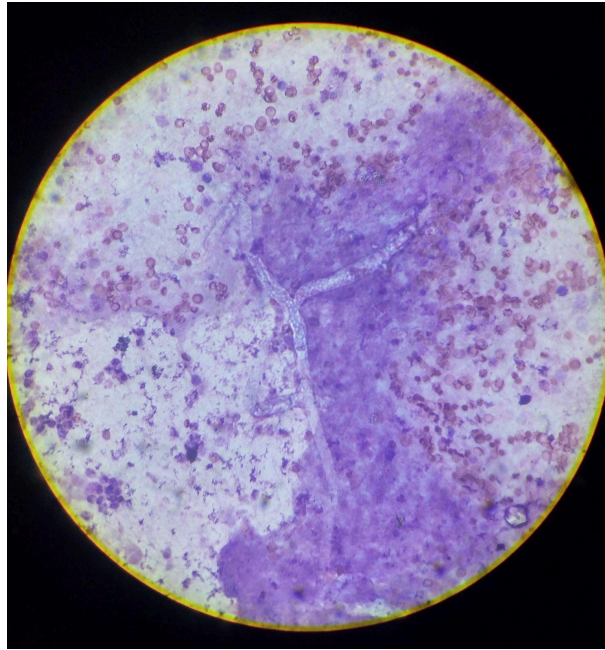


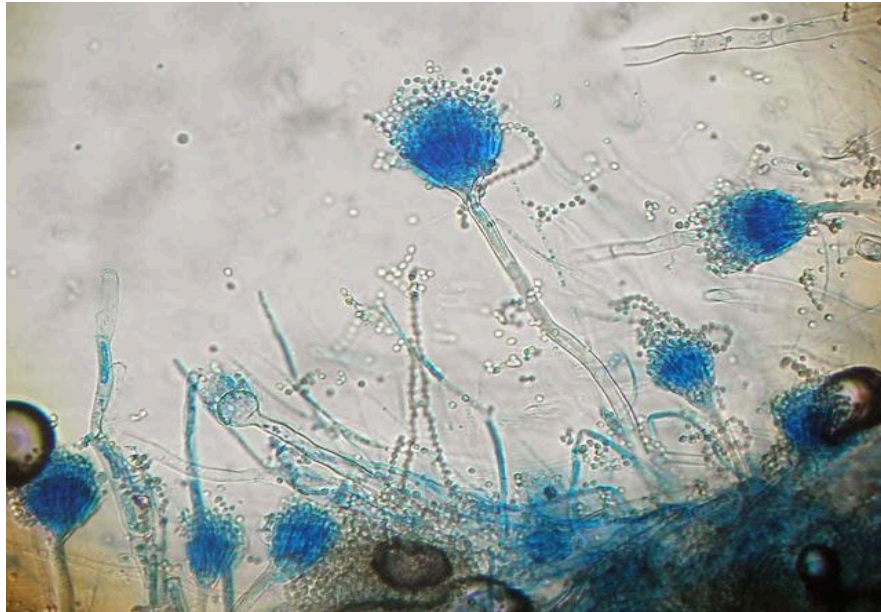
Imagen en 1000x

Cultivo: La muestra se sembró en medios Sabouraud Glucosa, Sabouraud Cloranfenicol y Mycosel a 28° C. Y a 37° C, en Sabouraud Cloranfenicol y Agar Sangre por tratarse de material profundo, por un periodo de 4 semanas.

A las 72 hs de incubación se obtuvo desarrollo de colonias algodonosas de color amarronadas.



Al realizarse un examen directo de las mismas se observan estructuras compatibles con *Aspergillus terreus* mediante el uso de claves taxonómicas.



La cepa aislada es enviada al **Centro de Emergencias Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR)** donde se le realizó la identificación por **MALDI-TOF** (espectrometría de masas) confirmando que se trataba de un *Aspergillus terreus*.

Tratamiento

Se le inició tratamiento con Itraconazol oral por tres meses, donde se vio una importante mejoría en su cuadro de salud y mantiene dicha medicación hasta el día de la fecha.

Conclusión

El caso expuesto pone en evidencia, la importancia de un diagnóstico temprano certero. También es de vital importancia fomentar la formación de los profesionales de la salud en la detección de micosis tanto superficiales como profundas. Al día de hoy, sigue siendo una rama de la microbiología oscura y muy resistida al conocimiento. Dado por la casi nula formación académica impartida, así como también por no contar con herramientas de diagnóstico rápidas y precisas para las mismas (serología, biología molecular, etc).

Bibliografía

- Roberto Arenas Guzmán - Micología Médica ilustrada, 3ra Edición. Mc Graw Hill
- <http://aspergilosis.reviveroammicol.com/>
- <https://www.slideshare.net/CarlaCastroBlanco1/284-galactomanano-dra-iris-agorio>

Póster



FENOTIPOS ERITROCITARIOS POCO FRECUENTES.
IMPLICANCIA CLÍNICA



Sadone, Julia¹; Cotorruelo, Carlos^{2,3}; Mattaloni, Stella³; Stettler, Silvina³; Trucco Boggione, Carolina^{2,3}

¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²IDICER-CONICET. ³Laboratorio de Inmunohematología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.

INTRODUCCIÓN

Un individuo con un fenotipo eritrocitario poco frecuente carece de uno o varios antígenos presentes en la mayor parte de la población a la que pertenece. Se presenta con una frecuencia poblacional muy baja, que varía entre 1/250 y 1/10.000 individuos.

Cada fenotipo eritrocitario raro es caracterizado por las especificidades antigénicas faltantes, su prevalencia en la población de interés y su importancia clínica.

Los individuos que no expresan dichos antígenos, generan aloinmunización frente a una exposición a los mismos.

En el laboratorio de Inmunohematología se llevó a cabo un estudio de muestras para la identificación de fenotipos eritrocitarios raros centrado en los sistemas Kell y Diego:

- o Sistema Kell: la expresión en el glóbulo rojo como K+k- es considerada rara.
- o Grupo sanguíneo Diego: es poco frecuente la expresión en la membrana eritrocitaria de D¹D².

MÉTODOS

Determinación de fenotipos a través de técnicas serológicas.

Genotipificación mediante estrategias moleculares de PCR-SSP (cebador secuencia específica) y PCR-RFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción).

RESULTADOS

Sistema Kell

Se estudiaron 300 muestras remitidas al laboratorio desde el Centro Regional de Hemoterapia de Rosario utilizando anticuerpos monoclonales anti-K. Aquellas que mostraron hemaglutinación fueron seleccionadas para continuar con su estudio (n=31). Se analizó el genotipo de estas muestras mediante estrategias de PCR-RFLP y PCR-SSP.

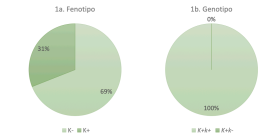
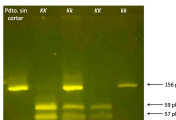


Figura 1a. Distribución de los fenotipos Kell en las muestras analizadas con anticuerpos anti-K.

Figura 1b. Genotipo de las muestras que hemaglutinaron con anti-K.



Fotografía 1. Gel de agarosa con productos de PCR-RFLP para el sistema Kell.

Sistema Diego

Se utilizaron estrategias de PCR-SSP para investigar la presencia de los alelos D¹M y D¹N en 178 muestras derivadas de Tucumán y 150 provenientes de Rosario.

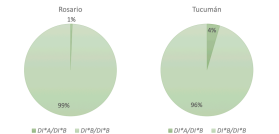
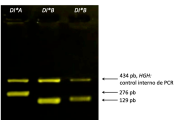


Figura 2. Frecuencia de individuos con los genotipos D¹M/D¹M y D¹M/D¹N en muestras provenientes de Rosario y Tucumán.



Fotografía 2. Gel de agarosa con productos de PCR-SSP para el sistema Diego.

CONCLUSIONES

- o Se pudo evidenciar que para los sistemas Kell y Diego los fenotipos eritrocitarios K-k- y D¹D² son poco frecuentes en las poblaciones estudiadas.
- o La identificación adecuada de los fenotipos eritrocitarios poco frecuentes mediante técnicas serológicas para la detección tanto de aloanticuerpos como de antígenos y el avance en el desarrollo y aplicación de estrategias de biología molecular para inferir el fenotipo a través del estudio del genotipo, son esenciales para brindar seguridad y minimizar complicaciones asociadas a la aloinmunización.
- o Contar con esta información de la población general y de los pacientes facilita el diagnóstico y seguimiento durante transfusiones, trasplantes o embarazos, debido a que los aloanticuerpos pueden ocasionar la destrucción de hematies transfundidos, o atravesar la placenta e inducir una hemólisis en el feto y en el recién nacido.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29319>



Universidad
Nacional
de Rosario



FENOTIPOS ERITROCITARIOS POCO FRECUENTES. IMPLICANCIA CLÍNICA

Autora: Julia Sadone

Tutora: Dra. Carolina Trucco Boggione

SIEBE, Hospital Provincial del Centenario

PRESENTACIÓN

La mayoría de la población expresa en sus glóbulos rojos determinados antígenos pertenecientes a los distintos sistemas de grupos sanguíneos. Sin embargo, existen individuos que presentan un fenotipo eritrocitario raro, que se caracteriza por la ausencia de uno o varios antígenos eritrocitarios que están presentes en la mayoría de la población a la que pertenecen. Este hecho implica que los individuos que no expresan dichos antígenos, generen aloinmunización frente a una exposición a los mismos, pudiendo causarles complicaciones perinatales, transfusionales y/o en el contexto de trasplantes de órganos. Considerando estas implicancias significativas en la salud de los pacientes, es que surge la necesidad de caracterizar sus grupos sanguíneos para garantizar su seguridad y así evitar las situaciones antes mencionadas.

En el laboratorio de Inmunohematología se llevó a cabo un estudio de muestras para la identificación de fenotipos eritrocitarios raros. Los fenotipos de los pacientes se analizaron a través de técnicas serológicas convencionales, mientras que la genotipificación de los mismos se realizó mediante estrategias de PCR-SSP (cebador secuencia específica) y PCR-RFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción). Estos análisis se centraron en el estudio de los sistemas Kell y Diego.

MARCO TEÓRICO

Un individuo con un fenotipo eritrocitario poco frecuente carece de uno o varios antígenos presentes en la mayor parte de su población. Para ser considerado como raro, debe presentarse con una frecuencia poblacional muy baja, que varía entre 1/250 y 1/10.000 individuos, según el país y el sistema sanguíneo que se esté considerando.

En los individuos con un fenotipo eritrocitario poco frecuente podrían encontrarse anticuerpos dirigidos contra los antígenos faltantes en sus glóbulos rojos producto de una aloinmunización. La presencia de estos aloanticuerpos son producto de una sensibilización por embarazo, transfusión, trasplante o menos frecuentemente, sin una causa atribuible.

La detección de individuos sensibilizados suele ocurrir durante estudios previos a que reciban transfusiones, trasplantes o durante el seguimiento de embarazo. Sin embargo, el

descubrimiento de los aloanticuerpos puede ocurrir luego de que un paciente transfundido evidencie hemólisis de los glóbulos rojos o por enfermedad hemolítica feto-neonatal (EHFN).

Se han descrito más de 100 fenotipos eritrocitarios raros, cada uno de ellos caracterizado por las especificidades antigénicas faltantes, su prevalencia en la población de interés y su importancia clínica. Si bien cada fenotipo en particular afecta a una cantidad limitada de individuos, al considerar la totalidad de los fenotipos raros, el número de personas que podrían estar afectadas adquiere relevancia.

Dentro de los fenotipos raros, consideraremos los relacionados con los sistemas Kell y Diego, ya que fueron los estudiados en el laboratorio de Inmunoematología mediante técnicas serológicas y estrategias moleculares de PCR-SSP y PCR-RFLP:

- El sistema Kell posee 36 antígenos, dentro de los cuales los más importantes son el K (Kell) y el k (Cellano), siendo el fenotipo K-k⁺ el más frecuente en caucásicos, seguido por K+k⁺. Para este sistema, la expresión en el glóbulo rojo como K+k⁻ es considerada rara.
- En cuanto al sistema de grupo sanguíneo Diego, está compuesto por 22 antígenos: 3 pares de antígenos antitéticos (Di^a y Di^b, Wr^a y Wr^b, W^u y DISK) y 16 antígenos de baja frecuencia. En nuestra población el fenotipo más frecuente es Di^bDi^b. En este caso, se considera rara la expresión en la membrana eritrocitaria de Di^aDi^a.

La mayoría de los antígenos de grupo sanguíneo se han producido como sustituciones de un único nucleótido, también llamados SNPs, que codifican a su vez el cambio de un aminoácido en la proteína correspondiente. Estas modificaciones genéticas pueden ser estudiadas por diferentes estrategias de biología molecular.

Las técnicas de PCR-SSP permiten distinguir variantes alélicas de un mismo sistema. Esta metodología se fundamenta en el uso de cebadores diseñados para que su extremo 3' terminal se una específicamente a una secuencia alélica determinada. Mediante las estrategias diseñadas para la aplicación de esta técnica se espera encontrar productos de amplificación solamente si los cebadores se unen completamente a su alelo blanco. Por otro lado, las estrategias de PCR-RFLP se basan en la detección de diferencias en la longitud de los fragmentos de restricción obtenidos a partir de una secuencia de ADN determinada. Dicha secuencia debe ser amplificada mediante PCR y luego sometida a la acción de una enzima de

restricción. Los diferentes genotipos originan la aparición o desaparición de los sitios de reconocimiento de la enzima, lo que genera los diferentes patrones de restricción.

RESULTADOS

Sistema Kell

Se estudiaron 100 muestras remitidas al laboratorio desde el Centro Regional de Hemoterapia de Rosario utilizando anticuerpos monoclonales anti-K. Aquellas que mostraron hemaglutinación fueron seleccionadas para continuar con su estudio, ya que los fenotipos probables serían K+k+ o K+k- (n=31). Luego, considerando que la secuencia alélica que determina la expresión del antígeno K difiere del alelo que determina su antígeno antitético Cellano en un único nucleótido, se analizó el genotipo de estas muestras mediante estrategias de PCR-RFLP y PCR-SSP. En todos los casos, se observó un genotipo heterocigota *K+k+*.

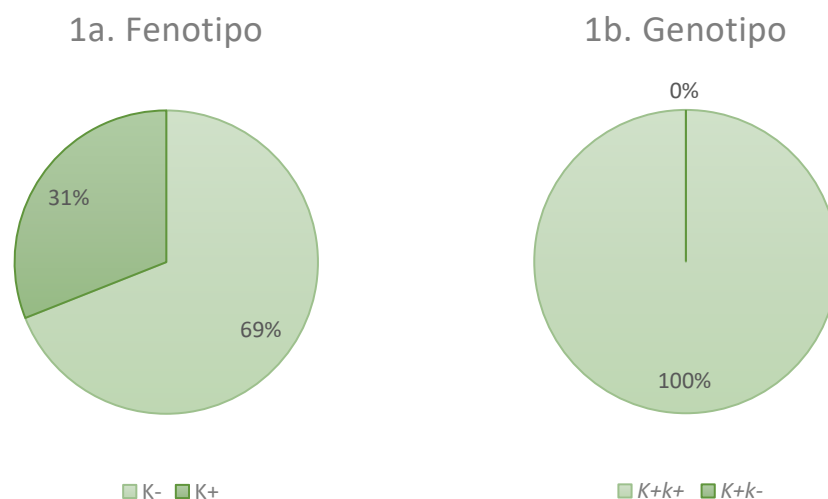


Figura 1a. Distribución de los fenotipos Kell observados en las muestras analizadas con anticuerpos anti-K (fenotipos probables K+k+ o K+k-). Se infiere que las muestras restantes tienen un fenotipo K-k+.

Figura 1b. Genotipo de las muestras que hemaglutinaron con anti-K.

Sistema Diego

Para la genotipificación del grupo sanguíneo Diego se utilizaron estrategias de PCR-SSP para investigar la presencia de los alelos *DI*A* y *DI*B* en 178 muestras derivadas de Tucumán y 150

provenientes de Rosario. Estos alelos se diferencian por un SNP, dando productos de amplificación de distinta longitud de pares de base, lo que permite discernir entre ambos genotipos. En la siguiente figura se observan las frecuencias de muestras con los genotipos DI^*A/DI^*B y DI^*B/DI^*B en los dos grupos poblacionales analizados.

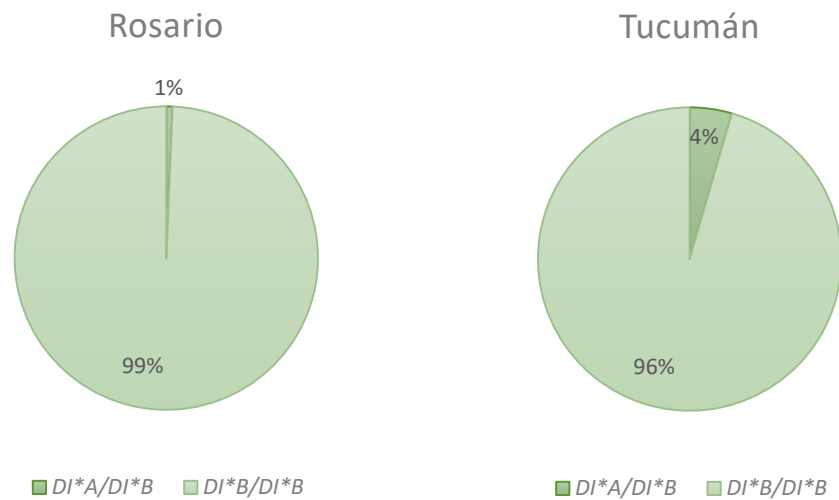


Figura 2. Frecuencia de individuos con los genotipos DI^*A/DI^*B y DI^*B/DI^*B en muestras provenientes de Rosario y Tucumán.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos a través de estrategias de biología molecular para los genotipos de los sistemas sanguíneos Kell y Diego de las poblaciones en estudio, se observó que la mayoría de los pacientes tienen un genotipo $K+k+$ y DI^*B/DI^*B , respectivamente. La información obtenida pone en evidencia la baja frecuencia de los fenotipos eritrocitarios $K+k-$ y Di^aDi^a considerados como raros.

Esta información muestra la importancia de identificar a aquellos individuos con un fenotipo poco frecuente en sus eritrocitos que podrían ser susceptibles de desarrollar aloinmunización, ya que, en caso de necesitar una transfusión, podrían exponerse a antígenos presentes en la mayoría de los donantes. Los pacientes con fenotipos raros deberían recibir sangre del mismo grupo o, caso contrario, podrían producir aloanticuerpos en una primera exposición o podría ocurrir una reacción hemolítica transfusional debida a la incompatibilidad inmunohematológica si ya se habían enfrentado a los antígenos previamente.

Conocer los genotipos y fenotipos eritrocitarios de la población general y de los pacientes facilita el diagnóstico y seguimiento durante transfusiones, trasplantes o embarazos, pudiendo brindar seguridad y minimizar complicaciones asociadas a la aloinmunización.

PERSPECTIVAS

Con los resultados obtenidos en el laboratorio se pudo evidenciar que para los sistemas Kell y Diego los fenotipos eritrocitarios K+k- y Di^aDi^a son poco frecuentes en las poblaciones estudiadas. La implicancia clínica en Inmunohematología de los grupos sanguíneos se basa en la posibilidad de que los pacientes sean sensibilizados si se exponen a antígenos ausentes en sus glóbulos rojos y produzcan aloanticuerpos, que pueden ocasionar la destrucción de hematíes transfundidos, o atravesar la placenta e inducir una hemólisis en el feto y en el recién nacido.

Con el fin de mejorar la seguridad de la terapia transfusional y aumentar la sobrevida de los hematíes transfundidos, sería beneficioso contar con laboratorios de referencia de Inmunohematología y con bancos de sangre de grupos sanguíneos raros que permitan resolver situaciones que requieran transfundir a individuos aloinmunizados o que tengan fenotipo poco frecuente, ya que existen enormes dificultades para obtener sangre compatible a la hora de una transfusión sanguínea.

Seguir obteniendo información sobre los fenotipos y genotipos de una determinada población es fundamental para poder conocer la frecuencia poblacional de los diferentes grupos sanguíneos y así poder diseñar estrategias de detección y armar bancos de sangre acorde a las necesidades de la misma.

La identificación adecuada de los fenotipos eritrocitarios poco frecuentes mediante técnicas serológicas para la detección tanto de aloanticuerpos como de antígenos y el avance en el desarrollo y aplicación de estrategias de biología molecular para inferir el fenotipo a través del estudio del genotipo, son esenciales para prevenir complicaciones en pacientes embarazadas, transfundidos o trasplantados.

BIBLIOGRAFÍA

Cortés Buevas, A., Muñiz-Díaz, E., & León de González, G. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Feriva S.A.

Reesink, H. W., Engelfriet, C. P., Schennach, H., Gassner, C., Wendel, S., Fontão-Wendel, R., ... & Meny, G. M. (2008). Donors with a rare pheno (geno) type. *Vox Sanguinis*.
[https://d1wgtxts1xzle7.cloudfront.net/44865039/Donors with a rare pheno geno type20160418-2983-kphhttp-libre.pdf?1461011988=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDonors with a rare pheno geno type.pdf&Expires=1722005113&Signature=OpJvEVDzbOVacR7wNpVTIKes0fIT~VmtWhkJ0wOKhTfqTMLmGbCUkbnzwWlbeQkrdiAPofJrQ8nQTeFUspNu-LHlxPXlijHUhl0NeCJU1Q3NQXfG3XbcBDrPeoqyvJGpP~iiUbBplebTADWvumSBTqfeuaCNb9iJ7ENR5Wy83PSaPN9r5~iOCiJr2~94Rx-OG06r8ID0vR3RlPkcCqsBgMue2~GB1mqevwPkPtWq6EhTetB6uwig5liR9Wp548YaKSeCvMdLUgIVlExU50G5nOPX3vDTZkcWC6-zgvGlujC4Lk103VpE1YnpGA~0BOGS53nW9230-92tg12-Qm8gg_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wgtxts1xzle7.cloudfront.net/44865039/Donors%20with%20a%20rare%20pheno%20geno%20type.pdf?1461011988=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDonors%20with%20a%20rare%20pheno%20geno%20type.pdf&Expires=1722005113&Signature=OpJvEVDzbOVacR7wNpVTIKes0fIT~VmtWhkJ0wOKhTfqTMLmGbCUkbnzwWlbeQkrdiAPofJrQ8nQTeFUspNu-LHlxPXlijHUhl0NeCJU1Q3NQXfG3XbcBDrPeoqyvJGpP~iiUbBplebTADWvumSBTqfeuaCNb9iJ7ENR5Wy83PSaPN9r5~iOCiJr2~94Rx-OG06r8ID0vR3RlPkcCqsBgMue2~GB1mqevwPkPtWq6EhTetB6uwig5liR9Wp548YaKSeCvMdLUgIVlExU50G5nOPX3vDTZkcWC6-zgvGlujC4Lk103VpE1YnpGA~0BOGS53nW9230-92tg12-Qm8gg_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

Trucco Boggione, C. (2016). *Estudio de las bases moleculares responsables de los fenotipos D negativo y D variante del sistema Rh en la población argentina. Importancia clínica* [Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario.].
<https://rephip.unr.edu.ar/server/api/core/bitstreams/beb14d5e-14f2-4097-a9b8-4af0f6cea677/content>

Póster

Meningitis bacteriana en paciente de 2 meses de edad



Autores: Giana Franz¹, Julieta Corbella², Adriana DiCocco³, Analía Elía⁴,
Carina Conforti⁵, Belinda Robledo⁶, Gladis Guerrero⁷, Gabriela Rolando⁸,
Hugo Brasesco⁹, Barbara Balbi¹⁰
¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR²
³Hospital Dr. Roque Saenz Peña, Municipalidad de Rosario



Municipalidad
de Rosario

Presentación del caso
Paciente: femenina con 2 meses de edad con fiebre persistente de 24 hs de evolución. Clínicamente estable.

Posibles diagnósticos para fiebre sin foco
• Dengue
• Infección Urinaria
• Meningitis
• Neumonía

• Laboratorio Clínico
• Radiografía de Tórax
• Hemocultivo y urocultivo

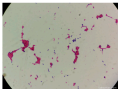
Radiografía tórax frente, se observa refuerzo pericardíaco derecho.
Antígeno NS1 para dengue (método ELISA) **no reactivo**.

Laboratorio clínico (valores alterados)
• GB **27300 /mm³**
• Plaquetas **482 mil/mm³**
• Fórmula Leucocitaria relativa: **81% neutrófilos segmentados** - 0% eosinófilos - 0% basófilos - **12% linfocitos** - 6% monocitos.
• **Proteína C Reactiva: 168 mg/dL** (NI hasta 3 mg/dL)

Infección Bacteriana Grave

Hemocultivo

- Hemocultivo 1: no se observa desarrollo
- Hemocultivo 2: **se obtuvo desarrollo**
- Gram - Nicole hem 2: **se observa abundante cantidad de cocos gram +**



Se lleva a cabo un cultivo en agar sangre y se observa una microscopía compatible con *S. pneumoniae*. Colonias alfa hemolíticas, con sensibilidad a optoquina. Se hicieron pruebas bioquímicas para confirmar (solubilidad en bilis, crecimiento en bibe- esnal) y todos fueron compatibles con dicho microorganismo.

Se realiza un antibiograma que dice:

- Sensible a:
• Ceftriaxona 6 - 0.06 µg/ml
• Cefepime 6 - 0.06 µg/ml
• Trimetoprim/Sulfametoxazol,
• Eritromicina - Clindamicina
• sin resistencia -
• sin interacción -

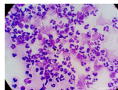
• Sedimento urinario normal
Leucocitos +, flocos no se observan. **Urea amoníaco** no se observa. **Nitritos** no se observan. **Urobilinas** no se observan. **Urobilinógenos** no se observan.



• Tinción de Gram **no se observan gérmenes**
• Urocultivo **negativo**

Muestra de LCR

Recuento **2400 elementos/mm³**, **polimorfonucleares 80%**, monocitulares 20%.



Se le indica Cultivo en 90 mg como tratamiento empírico y esto es la causa de no obtener desarrollo vivo en la muestra de LCR ya que el microorganismo era muy sensible.

- Cultivo LCR: no se obtuvo desarrollo bacteriano.
- Tinción Gram Nicole de LCR: no se observan gérmenes.

Filaria detectable para *Streptococcus pneumoniae*

Nombre de Paciente	J
Sexo	M
Edad	2 meses
Fecha de ingreso	10/01/2024
Fecha de alta	10/01/2024
Diagnóstico	Streptococcus pneumoniae
Tratamiento	90 mg
Control	10/01/2024

Se confirma el diagnóstico de meningitis por *Streptococcus pneumoniae*

Fue trasladada a terapia intensiva al Hospital de niños Víctor J. Villa.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29326>

Meningitis bacteriana en paciente de 2 meses de edad

Alumna: Giana Franz

Tutora: Bioq. Bárbara Balbi

Instituto: Hospital "Dr. Roque Saenz Peña", Rosario, Santa Fe.

2024

Presentación del caso clínico

Paciente de sexo femenino de 2 meses de edad derivada de un centro de salud que ingresa a la guardia pediátrica del Hospital "Dr. Roque Saenz Peña" (HSRP) el día 8/4 a las 18 hs con fiebre persistente de 24 hs de evolución .

La paciente se encuentra clínicamente estable, fauces levemente congestivas, eupneica, taquicardica.

Se solicitó análisis de laboratorio, radiografía de tórax, estudios para diagnóstico de Dengue, hemocultivos y urocultivo.

Antecedentes de interés: Fue derivada de un centro de salud donde le indicaron realizarse un laboratorio por sospecha de Dengue por tener contacto con familiares con dicha patología.

Marco teórico

La fiebre es uno de los motivos de consulta más frecuentes en pediatría. En aproximadamente 20% de los casos no se encuentra causa evidente después de una adecuada anamnesis y un examen clínico minucioso. Esto se define como fiebre sin foco (FSF). (1)

Lo primordial es determinar la causa de la fiebre. La mayoría de estos niños tendrá un proceso autolimitado de etiología viral y una pequeña minoría presentará infección bacteriana grave (IBG): infección del tracto urinario (ITU), bacteriemia oculta, neumonía, meningitis, gastroenteritis aguda bacteriana, entre otras. (1)

Las manifestaciones clínicas, el riesgo de IBG y los microorganismos involucrados varían con la edad, por lo tanto las pautas de atención inicial son diferentes y se divide a los pacientes con FSF en dos grupos: menores de 90 días de vida (que se diferencian, a su vez, en neonatos, de 0 a 30 días y lactantes de 30 a 90 días) y niños de 3 a 36 meses. (1)

Se siguen protocolos que permiten diferenciar el bajo o alto riesgo de tener una IBG siendo de mayor riesgo los individuos de menor edad. En los primeros meses de vida, la inmadurez del sistema inmune lleva a un déficit en la opsonización, en la función macrofágica y en la actividad de los neutrófilos. Hasta los 2 años, la producción de anticuerpos IgM e IgG específica frente a bacterias capsuladas no es adecuada.

Además, la inmunización activa requiere del esquema primario de vacunación, que, idealmente, debería completarse a los 6 meses, con un refuerzo posterior al año. (1)

Con el objetivo de identificar a los pacientes del grupo de 30 a 90 días de vida con bajo riesgo de desarrollar IBG, se generaron criterios que engloban los antecedentes, datos semiológicos y resultados de exámenes complementarios (tabla 1). (1)

Tabla 1

	<u>Rochester</u>	<u>Philadelphia</u>	<u>Boston</u>	<u>Pittsburgh</u>
<u>Antecedentes</u>	Recién nacido de término. Previamente sano, sin enfermedades crónicas ni subyacentes. No fue internado más tiempo que la madre. Sin hospitalizaciones previas. Sin tratamiento antibiótico previo o actual.			
<u>Examen físico</u>	Examen físico normal, sin OMA. Luce bien.			Independientemente de OMA.
<u>Hemograma</u>	Recuento de leucocitos: entre 5000 y 15 000. Recuento de cayados: < 1500/mm ³ .	Recuento de leucocitos: < 15000/mm ³ . Relación cayados/PMN totales < 0,2.	Recuento de leucocitos: < 20000/mm ³ .	Recuento de leucocitos: entre 5000 y 15000/mm ³ . Recuento de cayados: < 1500/mm ³ .
<u>Orina</u>	< 10 leucocitos/campo en sedimento urinario	< 10 leucocitos/campo en sedimento urinario.	< 10 leucocitos/campo en sedimento urinario.	Uroanálisis mejorado: < 10 leucocitos/ mm ³ en sedimento.
<u>Examen fresco mat fecal</u>	Si tuviera diarrea. < 5 leucocitos por campo de gran aumento. (Rochester 2).			
<u>LCR</u>	No se realiza punción lumbar	< 8 leucocitos/campo.	< 10 leucocitos/campo.	≤ 5 leucocitos/campo.
<u>Marcadores de Inflamación</u>	Proteína C reactiva, velocidad de eritrosedimentación, procalcitonina en niveles normales.			
<u>Radiografía de tórax.</u>	no se realiza	normal	normal	normal

Todos estos criterios definen al paciente con bajo riesgo de contraer IBG.

La proteína C reactiva y la procalcitonina son los reactantes de fase aguda más considerados en trabajos recientes. La proteína C reactiva (PCR) aumenta en infecciones víricas y bacterianas siendo un buen parámetro de evolución de la infección. Se eleva a las 6-12 horas. (2)

Interpretación:

- <20 mg/L: patología banal.
- 20-70 mg/L: infección localizada.
- **>70 mg/L: IBG**

La procalcitonina (PCT) tiene valores normales en cuadros virales y en procesos inflamatorios no infecciosos pero se eleva en infecciones bacterianas a las 3-4 horas. (2)

Interpretación:

- < 0,5 ng/ml: patología banal.
- 0,5 a 2 ng/ml: infección localizada.
- > 2 ng/ml: sepsis o IBG.

Las desventajas de este análisis: conlleva un mayor tiempo de espera de los resultados y mayor costo pero es de gran ayuda a la hora de diagnosticar una IBG. (2)

Por otro lado, la velocidad de eritrosedimentación aumenta en forma tardía, por lo tanto tiene baja sensibilidad y especificidad para detectar IBG. (2)

Infección del tracto urinario (ITU)

La ITU es la IBG más frecuente y se diagnostica en 4%-16% de los lactantes menores de 3 meses con FSF. Se puede observar que alrededor del 50% de los lactantes van a tener un sedimento urinario normal, no siendo un criterio suficiente para descartar una ITU ya que estos tienen poca capacidad de retención urinaria no pudiendo concentrar la orina. (1)

Un método que se utiliza para el diagnóstico rápido ante una sospecha de ITU es la tinción Gram Nicolle del sedimento urinario, la cual tiene una elevada sensibilidad y especificidad.⁽¹⁾

Pasada la etapa neonatal, los pacientes en buen estado general, con o sin bacteriemia, evolucionan favorablemente cuando son tratados con el antibiótico adecuado. No todos los lactantes de 1 a 3 meses deben recibir tratamiento antibiótico empírico (TEI).⁽¹⁾

Los criterios de bajo riesgo de IBG en lactantes de 30 a 90 días que pueden ser atendidos en forma ambulatoria, aun sin tratamiento antibiótico son:

- Buen estado general, sin signos de infección, sin antecedentes de importancia: nacido a término, sin complicaciones perinatales, no hospitalizado más tiempo que la madre, sin tratamiento antibiótico previo ni actual, sin internaciones previas, sin enfermedad de base. ⁽¹⁾
- Exámenes normales: recuento de leucocitos entre 5000 y 15000/mm³ , < 10 leucocitos por campo de gran aumento en sedimento de orina, sin piuria, proteína C reactiva < 20 mg/L o procalcitonina < 0,05 ng/ml. ⁽¹⁾

A todos estos pacientes se les deberán realizar 2 hemocultivos y urocultivo. Existe aún discusión sobre la seguridad de esta conducta en pacientes de 30 a 60 días. Los niños con bajo riesgo de IBG podrán ser controlados en forma ambulatoria si sus padres tienen buen nivel de alarma, comprenden las indicaciones y tienen accesibilidad al centro de salud. Se realizará seguimiento clínico estricto y control de cultivos las 24 horas. Los lactantes con alto riesgo de IBG deben internarse y recibir TEI en forma precoz, realizando previamente punción lumbar. El inicio del TEI con 50 mg/kg/día de ceftriaxona es una conducta posible en pacientes pequeños, especialmente los menores de 6 meses, temperatura elevada y falta de vacuna frente a *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. ⁽¹⁾

Meningitis

La meningitis bacteriana aguda (MBA) se define como el proceso inflamatorio de las leptomeninges encefálicas y medulares que cursa con líquido cefalorraquídeo (LCR)

turbio o purulento, intensa pleocitosis y predominio de polimorfonucleares (PMN). La sospecha de MBA es una emergencia médica y el diagnóstico y tratamiento deben establecerse sin retraso por la elevada morbimortalidad. (3)

La meningitis es producida por distintos microorganismos, fundamentalmente **bacterias y virus**; siendo esta última la más frecuente pero la bacteriana la más severa. Con menor frecuencia los hongos y parásitos pueden ser causa fundamentalmente en los niños con inmunodeficiencias. Dentro de las bacterias más comunes responsables de dicha patología se encuentran: Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae. (3)

En el caso de las meningitis bacterianas una de las formas de transmisión ocurre por **vía respiratoria: Hematógena**: desde una persona enferma o desde portadores que no presentan síntomas por medio de tos, estornudos, besos o uso compartido de utensilios (vasos, cubiertos, mate, etcétera) donde hay colonización nasofaríngea y desde los plexos coroideos o vasos sanguíneos del cerebro atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE) inmadura. (3)

Los síntomas son variables según la edad y pueden ser bastante inespecíficos, dependiendo del tiempo de desarrollo de la enfermedad al momento de la consulta inicial y la respuesta del paciente a la infección. **En recién nacidos puede iniciarse sólo con presencia de fiebre**. En pacientes de mayor edad pueden presentar, dependiendo del tiempo de evolución, dolor de cabeza, vómitos, rigidez de nuca, fontanela abombada (inflamación en el espacio donde se unen los huesos del cráneo en la nuca), intolerancia anormal a la luz o los sonidos, trastornos de la conciencia, convulsiones, petequias. (3;4;5;6;7)

Por otro lado, pueden desarrollarse meningitis no infecciosas causadas por hemorragia subaracnoidea, tumores, quistes intracraneales, fármacos, enfermedades sistémicas como lupus, anestesia raquídea, etc. (3;4;5;6;7)

Dentro de los marcadores biológicos de acción bacteriana se encuentran:

- Proteína C reactiva: (LCR, suero) elevada en procesos bacterianos, no así en procesos virales. (4)
- Leucocitos en LCR: 1000-5000 (m. bacterianas), 50-1000 (m.virales). (4)

- tipo celular principal: neutrófilos +80%. (4)
- glucosa plasmática: baja, < 45 mg/dl. (4)
- Gluc LCR/Glu pl < 0,4 baja. (4)
- Proteínas: elevadas, > 100 mg/dl. (4)

Streptococcus Pneumoniae

S. pneumoniae es una bacteria coco Gram positiva, capsulada, tienen una forma lanceolada, miden 0,5 a 1,2 mm de diámetro y se disponen en pares o diplococos. Son anaerobios facultativos. Para su crecimiento y multiplicación tiene requerimientos específicos, como aportes de proteínas y suplementos hematológicos, por lo que es considerada una bacteria fastidiosa. (8)

S. pneumoniae forma parte de la flora bacteriana normal de la mucosa nasal y faríngea, siendo su hábitat preferencial la nasofaringe posterior. La colonización por *S. pneumoniae* es más elevada en niños y adultos sobre los 60 años de edad, comparativamente a los adultos de edad mediana. (8)

Crece en cultivos de agar sangre formando colonias redondas, mucosas y rodeadas de un halo de α -hemólisis verdoso. Otras características son: catalasa negativo, sensible a optoquina, en presencia de bilis o sales biliares se produce una destrucción o lisis bacteriana; estas características fenotípicas son la base para la identificación de especie. (8)

Tiene una elevada mortalidad (20- 30%), y asociación con secuelas neurológicas (hipoacusia, déficits sensoriales y convulsiones). (8)

Su principal factor de virulencia es el polisacárido capsular. La composición antigénica de la cápsula es variable en diferentes cepas y permite agrupar a los *S. pneumoniae* en más de 90 diferentes serotipos capsulares y aproximadamente 45 serogrupos. Por lo tanto tiene la capacidad de eludir la acción fagocitaria en ausencia de anticuerpos específicos. También inhibe la activación del complemento por la vía alterna y degrada el fragmento C3b unido a la superficie bacteriana. (8)

Debido a la relevancia clínica y epidemiológica, los casos de meningitis deben ser notificados a las autoridades sanitarias nacionales, a través de la denuncia en el Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA). (8)

Resultados

- Radiografía tórax: frente, se observa refuerzo paracardiaco derecho.
- Antígeno NS1 para dengue (método Elisa): **no reactivo**.
- Laboratorio:
 - GB: 27300/mm3**
 - GR: 3.3 M/mm3
 - Hemoglobina: 9.2 g/dl
 - Hto: 28.2 %
 - VCM: 85 fL
 - HCM: 27.9 pg
 - CHCM: 32.6 g/dl
 - **Plaquetas: 485 mil/mm3**
 - Fórmula Leucocitaria relativa: **81% neutrófilos segmentados** - 0% eosinofilos - 0% basofilos - **12% linfocitos** - 6% monocitos
 - Uremia: 15 mg/dl VR: 14 - 36 mg/dl
 - Creatininemia: 0.29 mg/dl VR: 0.51 - 0.95 mg/dl
 - Glicemia: 168 mg/dl VR: 70-110 mg/dl
 - GOT: 22 UI/l VR: hasta 38 UI/l
 - GPT 29 UI/l VR: 14 - 59 UI/l
 - **Proteína C Reactiva: 168 mg/dl** VR hasta 3 mg/dl

Se pide muestra de orina para análisis del sedimento, urocultivo y hemocultivo para decidir conducta antibiótica. Se sospecha de infección urinaria por lo que se indica Ceftriaxona 90 mg.

Queda en observación en la guardia de pediatría.

En el examen bacteriológico directo de la muestra de orina (tinción de Gram Nicolle) **no se observan gérmenes.**

Sedimento urinario: Leucocitos +/-, Píocitos no se observan, Uratos amorfos +++, cel epiteliales +/-, hematíes no se observan, cristales no se observan, cilindros no se observan.

Se solicita muestra de líquido cefalorraquídeo por punción lumbar.

- LCR:
 - Examen citológico: Aspecto pre centrifugado: opalescente, post centrifugado: límpido con botón blancohemático. Glucosa: 49 mg/dl, proteínas 2.80 g/l, Pandy ++++.
 - Recuento: **2400 elementos/mm³, polimorfonucleares 80%, mononucleares 20%.**
- Filmarray: **detectable para Streptococcus pneumoniae.**
- Cultivo LCR: no se obtuvo desarrollo bacteriano.
- Tinción Gram Nicolle de LCR: no se observan gérmenes.
- Hemocultivo 1: no se observa desarrollo
- Hemocultivo 2: **se obtiene desarrollo de Streptococcus pneumoniae**
- Gram - Nicolle hem 2: **se observa abundante cantidad de cocos gram +.**
- Antibiograma: **Sensibles a:**

- CIM penicilina G: **< 0.06 ug/ml**

- CIM Ceftriaxona **< 0.12 ug/ml**

Trimetoprim/sulfamethoxazol, Eritromicina - Clindamicina

atb resistentes: -

atb intermedios: -

Discusión y conclusiones

La hipótesis inicial de Dengue, se descartó por la antigenemia no reactiva y por el resultado del hemograma. En el mismo se observó leucocitosis y trombocitosis. Para el caso de Dengue se suele observar leucopenia y trombocitopenia, generalmente.

Como se describió en el marco teórico en los protocolos a seguir para diagnóstico de IBG, vemos que al ser un recuento de GB mayor a 15000/mm³ es indicativo de un alto riesgo.

La trombocitosis en pediatría puede deberse a un proceso secundario a otras entidades patológicas donde las causas más frecuentes son las infecciosas.

La siguiente sospecha es una ITU. Se toman las muestras para urocultivo y hemocultivos y **luego se le indica el antibiótico.**

En el sedimento urinario no se evidencia reacción inflamatoria ni presencia de gérmenes, pero no se puede descartar ITU ya que los bebés no pueden concentrar la orina por falta de control de los esfínteres. Siendo que en el Gram Nicolle de la orina, que es un método muy sensible y específico, **no se observaron microorganismos** y en el urocultivo **no se obtuvo crecimiento de colonias, se descarta la sospecha de ITU.**

Se procede a tomar una muestra de LCR por punción lumbar. El examen citológico indicó presencia de **2400 elementos con predominio de polimorfonucleares**. Por lo que se describe en el marco teórico, vemos que esto es indicio de una meningitis bacteriana.

En el Gram Nicolle del **LCR no se observaron gérmenes**, pero esto puede relacionarse a que la paciente ya estaba medicada con antibióticos cuando se realizó la toma de muestra y el microorganismo era muy sensible, como se observa en el antibiograma.

En consecuencia, se decide derivar la muestra de LCR al CEMAR para detección de ADN por Filmarray (RT-PCR). A las 12 hs se obtuvo el resultado dando detectable para **Streptococcus pneumoniae.**

En el hemocultivo, el análisis del Gram Nicolle se observaron cocos gram positivos y se le hicieron las pruebas bioquímicas correspondientes para su identificación confirmándose Streptococcus pneumoniae.

El día 9/4 a las 16 hs ingresa a terapia intensiva infantil del Hospital de niños Victor J. Vilela.

El día 18/4 recibió el alta.

Perspectivas

El protocolo establecido para el manejo del síndrome febril en pacientes menores de 3 meses fue llevado a cabo correctamente. No obstante, hubiera sido recomendable solicitar ciertos análisis adicionales que podrían haber facilitado un diagnóstico más rápido.

Como se describió en el marco teórico, la procalcitonina es uno de los reactantes de fase aguda y un parámetro útil para el diagnóstico de infecciones bacterianas graves (IBG). Su medición hubiera permitido descartar una infección del tracto urinario (ITU) de manera más rápida, ya que los niveles de procalcitonina suelen aumentar en casos de meningitis, pero no en infecciones urinarias. Hubiera sido adecuado solicitar este análisis en el primer laboratorio, junto con la medición de proteína C reactiva, la cual mostró valores elevados en este caso, aunque este parámetro puede aumentar tanto en infecciones bacterianas graves como en infecciones urinarias.

Por otro lado, un análisis complementario que también podría haber sido útil es la medición de glucosa en sangre antes de la punción lumbar, con el fin de compararla con el valor de glucosa en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en ese momento. La glucorraquia mostró un valor elevado en una muestra con una gran cantidad de elementos, como en este caso, y en un contexto de diagnóstico de meningitis bacteriana. Normalmente, se observa una relación Glucosa LCR/Glucosa plasmática menor a 0.4, donde la glucosa en el LCR debería ser menor a 18 mg/dl y la glucosa plasmática menor a 45 mg/dl.

Bibliografía

1. Bruno M, Ellis A. *Consenso para el uso adecuado de antibióticos en el niño menor de 36 meses con fiebre sin foco de infección evidente* (2017).
https://www.sap.org.ar/uploads/consensos/consensos_consenso-para-el-uso-a-decuado-de-antibioticos-en-el-nino-menor-de-36-meses-con-fiebre-sin-foco-de-infeccion-evidente-66.pdf
2. Dr. Julio López Mañán (2018). *Síndrome febril en niños menores de 6 meses*. Recuperado de
https://www.sap.org.ar/docs/congresos_2018/Ambulatoria/Viernes%209%20de%20noviembre/V22%20LopezManana%20Sindrome%20febril%20en%20ninos%20menores%20de%206%20meses.pdf
3. Téllez González C, Reyes Domínguez S, Sanchíz Cárdenas S, Collado Caparrós JF (2021). *Meningitis bacteriana aguda*. Recuperado de
https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/43_meningitis_bacteriana.pdf
4. Mandell, Douglas y Bennet. *Enfermedades infecciosas*. Principios y práctica. 7ª Ed. 2012, Elsevier.
5. Bailey y Scott. *Diagnóstico microbiológico*. Médica Panamericana. 12a ed. Ed. 2009.
6. *Microbiología médica*. MURRAY, ROSENTHAL, PFALLER. 7ª ed. Elsevier. 2013.
7. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología
<https://www.aam.org.ar/manual-microbiologia.php>
8. PREADO J., VALERIA. (2001). Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS BÁSICOS. *Revista chilena de infectología* , 18 (Supl. 1), 6-9.
<https://www.scielo.cl/pdf/rci/v18s1/art02.pdf>

Alumna: Bernat, Yaco

Tutor Académico: Perez, Jorgelina

Lugar de realización: Servicio de Bacteriología, FCByF-
UNR - Hospital Provincial del Centenario

Póster



EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA A COLISTÍN

Bernat, Yaco¹; Pastore, Florencia²; Falco, Gabriela²; Perez, Jorgelina²

¹Facultad de Cs. Biológicas y Farmacéuticas (FCByF), Universidad Nacional de Rosario (UNR), Rosario, Santa Fe. ²Servicio de Bacteriología, Facultad de Cs. Biológicas y Farmacéuticas (FCByF), Universidad Nacional de Rosario (UNR), Hospital Provincial del Centenario, Rosario, Santa Fe.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, se observó un aumento en la recuperación de bacilos Gram negativos multiresistentes a nivel nosocomial. Las escasas opciones terapéuticas disponibles, han llevado a la creciente utilización de colistín (COL) y consiguiente emergencia de su resistencia. El ensayo de susceptibilidad a COL es un punto controversial dado que las metodologías automatizadas, epidemiológicas y de difusión están desactualizadas. El Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) desarrolló tres técnicas: pre-difusión con tabletas de COL, colistín-drop-test y difusión con discos de COL para abordar esta problemática.

OBJETIVOS

Evaluar y comparar el desempeño de las metodologías propuestas por el LNR en aislamientos clínicos de pacientes atendidos en el Hospital Provincial del Centenario.

MATERIALES Y MÉTODOS

ASILAMIENTOS CLÍNICOS

Se estudiaron 15 aislamientos recuperados a partir de muestras clínicas provenientes del Hospital Provincial del Centenario (HPC).

> Distribución de microorganismos recuperados



> Distribución de materiales clínicos analizados



> Procedencia de los aislamientos clínicos.



SUSCEPTIBILIDAD A COL (según protocolos del LNR):

- > Pre-difusión con tabletas de COL
- > Colistín drop-test
- > Difusión con discos de COL

RESULTADOS

- > Por las tres metodologías empleadas, 1/15 aislamientos resultaron resistentes a COL, y 14/15 sensibles.
- > A través del método de difusión con discos, se determinó la CIM a COL. 1/15 de los aislamientos presentaron una CIM ≤ 4 ug/mL, 3/15 tuvieron un valor de CIM ≤ 2 ug/mL, y 13/15 manifestaron una CIM ≤ 1 ug/mL.

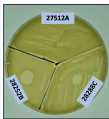


Figura 1. Colistín drop-test. 28532A. Aislamiento sensible. 2858C. Aislamiento sensible. 27533A. Aislamiento resistente.

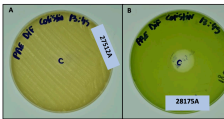


Figura 2. Pre-difusión con tabletas de COL. 3A. 27532A. Aislamiento resistente. 2B. 28575A. Aislamiento sensible.

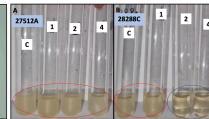


Figura 3. Estudio con discos de COL. C: tubo control; TUBO 1: concentración 320 ug/ml de COL; TUBO 2: concentración 160 ug/ml de COL; TUBO 3: concentración 80 ug/ml de COL; TUBO 4: concentración 40 ug/ml de COL. A: 27532A (Ejemplo de CIM a COL < 4 ug/mL, aislamiento resistente). B: 2858C (Ejemplo de CIM a COL < 2 ug/mL, aislamiento sensible).

CONCLUSIÓN

> En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que las 3 metodologías evaluadas son concordantes entre sí, ya que todos los aislamientos, por las tres técnicas empleadas tuvieron los mismos resultados. De esta manera, tenemos 3 opciones válidas para evaluar la susceptibilidad a colistín en el laboratorio de microbiología, de acuerdo a las disponibilidades de las técnicas. Además, el método de difusión con discos COL nos devuelve un valor de CIM, dato que es muy útil en determinadas infecciones severas, como por ejemplo una sepsis, en donde le permite al médico ajustar la dosis.

PERSPECTIVAS

> Durante mi paso por el Hospital Provincial del Centenario comprendí que el mismo no escapa de la realidad mundial de la prevalencia de bacterias multi-resistentes, y que colistín es una de las pocas drogas que se pueden utilizar en estos aislamientos. Por lo tanto, resulta interesante abordar la búsqueda de cepas resistentes a COL en futuros análisis de vigilancia epidemiológica, los cuales se realizan una vez por semana en las salas de cuidados críticos.

> Pólo metodológico recomendable para la pesquisa de cepas resistentes a COL, podría ser el Drop Test, ya que es una técnica ágil, rápida y de bajo costo.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29327>



EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA A COLISTINA

Autor: Yaco Bernat

Tutor: Jorgelina Pérez

Institución: Laboratorio Asistencial de Bacteriología.
FCByF-Hospital Provincial del Centenario

Presentación

La determinación de la susceptibilidad a colistina (COL) tiene características controvertidas, ya que las metodologías tradicionales (difusión en agar, determinaciones automatizadas, dilución en caldo, métodos epsilométricos) son desaconsejadas. Para su identificación, el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) desarrolló e implementó una serie de técnicas: **pre-difusión con discos COL, colistín drop-test y elución con discos de COL.**

El objetivo del presente trabajo es evaluar y comparar el desempeño de las metodologías propuestas en aislamientos clínicos locales provenientes de pacientes asistidos en el Hospital Provincial del Centenario.

Marco teórico

La emergencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas, *Acinetobacter* y *P. aeruginosa* XDR (extremadamente resistente) y las escasas opciones terapéuticas disponibles, han llevado a la creciente utilización de colistina y consecuente emergencia de su resistencia. Como la evaluación de la sensibilidad a esta droga se ha vuelto crítica, ha surgido la necesidad de contar con métodos diagnósticos que rápidamente permitan dar respuesta.

La resistencia a colistina (COL) es intrínseca en algunas especies mientras que en otras es adquirida debido a mutaciones cromosómicas o, por adquisición de plásmidos transferibles que portan los genes de la familia *mcr*. En todos los casos, la consecuencia es una disminución de la carga negativa del LPS, que conlleva a una menor interacción con COL cargado positivamente.

La determinación de susceptibilidad a COL siempre ha sido conflictiva por la gran cantidad de parámetros que pueden afectar los resultados. La naturaleza anfipática de COL y su alto peso molecular obstaculiza su difusión en el agar, dando zonas de inhibición típicamente pequeñas. Por lo tanto, la diferenciación entre aislamientos resistentes y sensibles basados en la zona, no es confiable. Por lo señalado, no es una metodología aceptada para este antimicrobiano.

Por otro lado, la determinación de la susceptibilidad a COL tampoco se puede realizar por métodos automatizados utilizados frecuentemente como VITEK, ya que la propiedad

ciónica de COL genera, por efecto electrostático, la adsorción a superficies con carga negativa como la de los plásticos. Específicamente, la adsorción de colistina a las microplacas de plástico (donde se realiza la CIM por el método de microdilución en caldo), podría producir valores de CIMs falsamente elevados, debido a la unión del antibiótico a la superficie. Debido a que la adsorción de COL al plástico resulta saturable, se ven afectados con mayor grado aquellos valores de CIM $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, más que los de $> 2 \mu\text{g/ml}$.

El LNR (Serv. Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. C. Malbrán”) indica que los puntos de corte del EUCAST (comité de puntos de corte de la European Medicines Agency) permiten categorizar los aislamientos de *Enterobacterias*, *Pseudomonas spp* y *Acinetobacter spp* como S o R. Por esta razón, se adoptaron los puntos de corte del EUCAST (**S < 2 ug/ml, R > 4 ug/ml**) para categorizar la sensibilidad a colistina.

En conclusión, por las dificultades detalladas, las metodologías tradicionales de determinación de la susceptibilidad a COL están desaconsejadas. En este contexto, el LNR propuso una serie de técnicas: **pre-difusión con discos de COL**

(<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Predifusion-Tabletas-COL-Rosco-version2-Agosto2017.pdf>), **colistín drop-test**

(<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2019/06/Protocolo-COLISTIN-DROP-TEST.pdf>), y **elución con discos de COL** (<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Met-de-Eluci%C3%B3n-de-Discos-de-COL-version2-Agosto2017.pdf>). En este trabajo evaluamos el desempeño de las mismas en aislamientos clínicos del HPC.

Resultados

Se investigaron 15 aislamientos recuperadas a partir de muestras clínicas provenientes del Hospital Provincial del Centenario (HPC): 5/15 (33%) fueron *Escherichia coli*, 4/15 (27%) *Acinetobacter baumannii* complex, 3/15 (20%) *Pseudomona aeruginosa*, 2/15 (13%) *Klebsiella pneumoniae*, y 1/15 (7%) *Salmonella* group. Gráfico 1.

Como se muestra en el Gráfico 2, estos aislamientos fueron recuperados a partir de los siguientes materiales clínicos: 5/15 (33%) materia fecal, 4/15 (27%) hemocultivos, 3/15 (20%) líquidos de punción, 2/15 (13%) muestras respiratorias, y 1/15 (7%) material óseo.

Las muestras clínicas recuperadas en el HPC, provienen en un (67%) de salas de internación correspondientes a Unidad de Terapia Intensiva (UTI), Unidad de cuidados intermedios (UCIN), Sala 1 (internación de adultos) y Neonatología. El 33% de los aislamientos restantes derivan de la guardia. Gráfico N°3.

Cada aislamiento clínico fue testeado por las metodologías predifusión con discos COL, Drop Test y Elución con discos de COL. Los tres ensayos fueron realizados el mismo día.

Como se muestra en la Tabla 1, 14/15 (93%) de los aislamientos resultaron sensibles por la técnica Drop Test. En los mismos se evidenció la sensibilidad por la presencia de un halo de inhibición de crecimiento en la placa. En el aislamiento resistente hubo ausencia de halo. A modo de ejemplo en la Imagen 1 se muestran los aislamientos 27512A (*Klebsiella pneumoniae* recuperado de infección de hueso en paciente procedente de UTI) resistente, el 288252 (*Salmonella* group aislada de hemocultivo en un paciente de la guardia) sensible y el 28288C *Acinetobacter baumannii* complex recuperado a partir de hemocultivo de paciente en UTI) sensible.

Luego las muestras fueron analizadas por predifusión con discos COL, donde la ponderación de sensible o resistente se hace a partir de la lectura del diámetro de un halo de inhibición. Los halos obtenidos se detallan en la Tabla 1, donde se muestra que 14/15 (93%) de los aislamientos resultaron sensibles con halos $\geq 16\text{mm}$. Cabe destacar que todos los aislamientos de *Escherichia coli* tuvieron halos $\geq 25\text{mm}$. En este contexto, en la Imagen 2 A se evidencia un aislamiento resistente (27512A), mientras que en la parte B de la Imagen 2 podemos visualizar un aislamiento sensible (28175A), correspondiente a la recuperación de *Pseudomona aeruginosa* a partir de un hemocultivo de paciente internado en la guardia.

Adicionalmente, en la Imagen 3 se muestran, a modo de ejemplo, 3 aislamientos clínicos (27512A; 28288C; 28252B) analizados por los métodos drop test y predifusión con discos COL. A partir de la imagen y la tabla, se evidencia la congruencia de ambas técnicas.

Imagen N° 3: Correlación de resultados en métodos Drop Test y Predifusión con discos.



El aislamiento 27512 A resultó resistente COL (ausencia de halo de inhibición) por ambas metodologías. Los aislamientos 28252B y 28288C fueron sensibles (presencia de halos de inhibición) en ambos ensayos.

Por último, las muestras se testearon por la técnica elución con discos COL, aquellas con una $CIM \geq 4$ ug/ml son resistentes, crecen en todos los tubos (control, 1, 2, 4). Por otro lado, en las muestras sensibles, en aquellos aislamientos con $CIM \leq 1$ ug/ml se observan los tubos 1,2 y 4 translucidos (ausencia de crecimiento), y en aquellas muestras con $CIM \leq 2$ ug/ml crecimiento en el tubo control y 1 (1ug/ml), y ausencia del mismo en tubos 2 (2ug/ml) y 4 (4ug/ml). En la tabla 1 se observa que solo 1/15 (7%) aislamientos fue resistente, en donde en todos los tubos hay crecimiento, lo que implica una $CIM \geq 4$ ug/ml. 14/15 (93%) de los aislamientos fueron sensibles, 13/14 (93%) de los aislamientos sensibles tuvieron una $CIM \leq 1$ ug/ml, mientras que 1/14 (7%) tuvo una $CIM \leq 2$ ug/ml. A modo de ejemplo en la Imagen 4 A se observa el aislamiento 27512A en el cual se observa crecimiento en todos los tubos, $CIM \geq 4$ ug/ml, resistente. Por otro lado, en la parte B de la Imagen 4, el aislamiento 28288C donde se visualiza crecimiento en tubo control y 1, en el tubo 2 se evidencia la ausencia de crecimiento, $CIM \leq 2$ ug/ml, aislamiento sensible.

Gráfico N°1: Distribución de microorganismos recuperados.

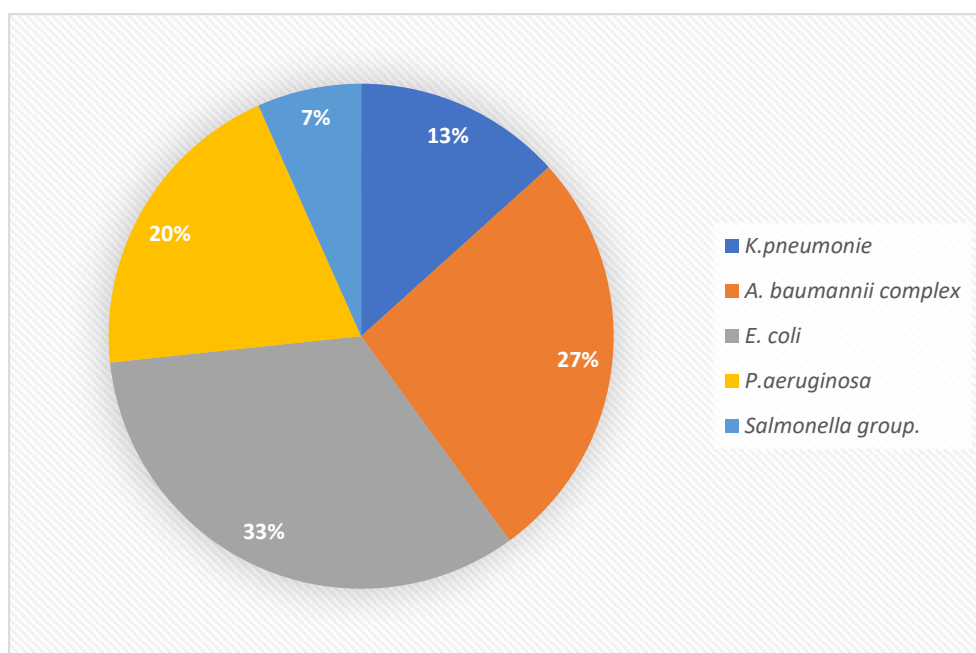


Gráfico N°2: Distribución de materiales clínicos analizados.

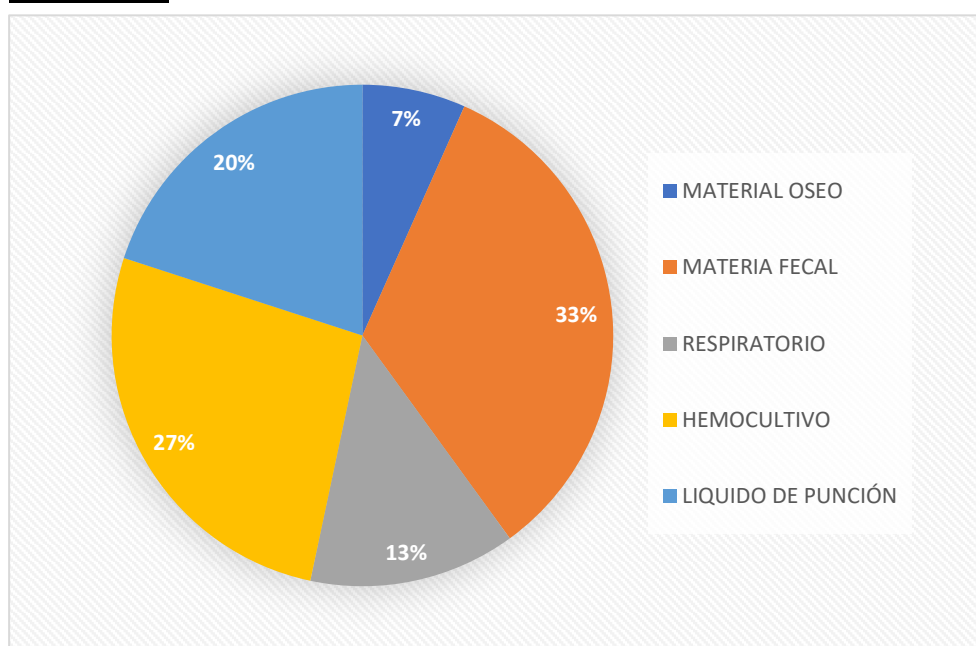


Gráfico N°3: Procedencia de los aislamientos clínicos.

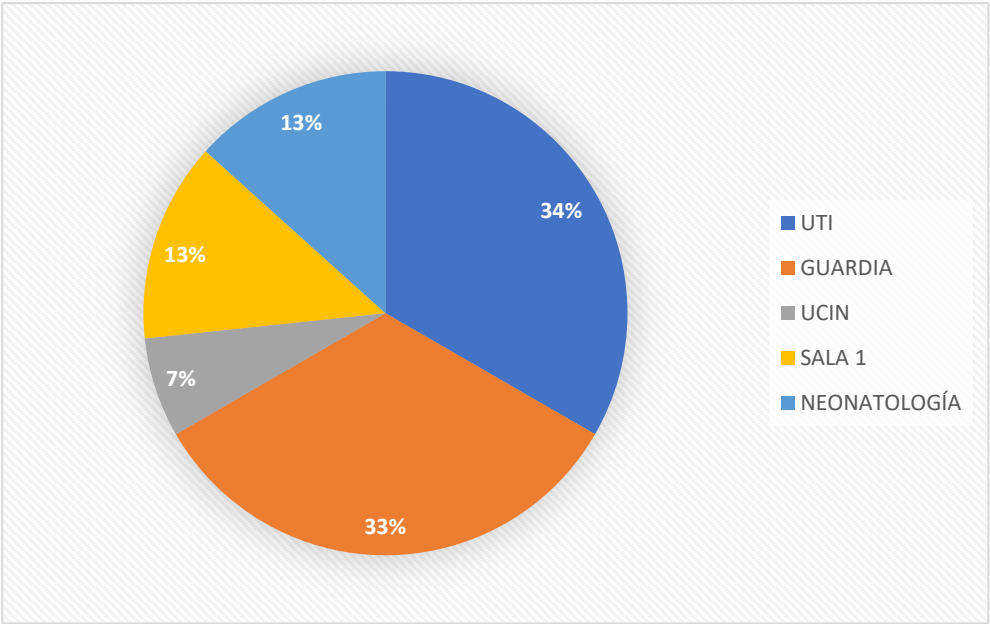
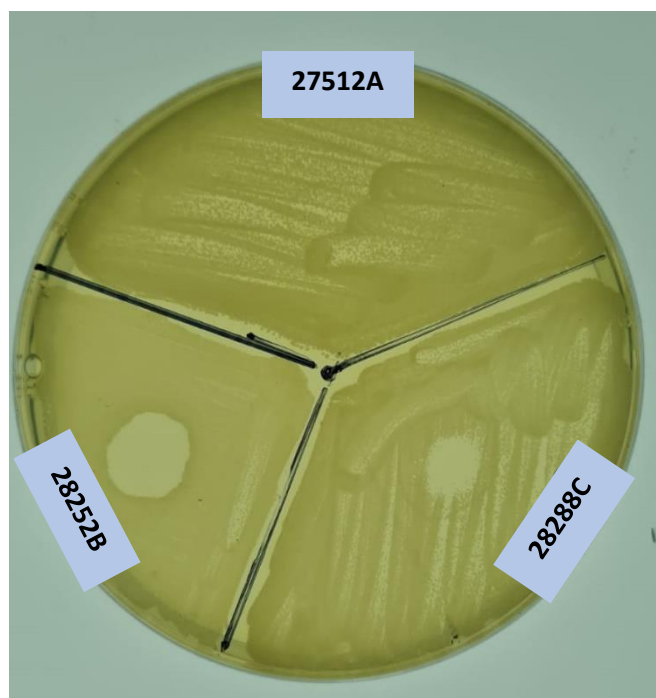


Tabla N°1: Descripción de los aislamientos clínicos empleados. Resultados de los testeos de colistina.

N° PROTOCOLO	FECHA	SALA	MATERIAL	GERMEN	DROP TEST	PRE DIFUSIÓN (HALO)	ELUSION
27512A	20/3/2024	UTI	Hueso	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	R	R:(10mm)	R:CIM ≥ 4 ug/mL
28024B	3/4/2024	UCIN	Materia fecal	<i>Complejo Acinetobacter baumannii</i>	S	S:(21mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28075A-1	4/4/2024	SALA 1	Materia fecal	<i>E. coli</i>	S	S:(25mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28075A-2	4/4/2024	SALA 1	Materia fecal	<i>E. coli</i>	S	S:(25mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28088D-1	4/4/2024	NEO	Materia fecal	<i>E. coli</i>	S	S:(25mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28088D-2	4/4/2024	NEO	Materia fecal	<i>E. coli</i>	S	S:(25mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28130-3	5/4/2024	UTI	Material respiratorio	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	S	S:(22mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL

28175A	6/4/2024	Guardia	Hemocultivo	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	S	S:(18mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28177B	6/4/2024	Guardia	Hemocultivo	<i>E. coli</i>	S	S:(25mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28196A	7/4/2024	Guardia	Líquido de punción	<i>Complejo Acinetobacter baumannii</i>	S	S:(23mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28198	7/4/2024	Guardia	Material respiratorio	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	S	S:(17mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28208A-1	8/4/2024	UTI	Líquido de punción	<i>Complejo Acinetobacter baumannii</i>	S	S:(28mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28208A-2	8/4/2024	UTI	Líquido de punción	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	S	S:(31mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28252B	9/4/2024	Guardia	Hemocultivo	<i>Grupo Salmonella</i>	S	S:(28mm)	S:CIM ≤ 1 ug/mL
28288C	10/4/2024	UTI	Hemocultivo	<i>Complejo Acinetobacter baumannii</i>	S	S:(25mm)	S:CIM ≤ 2 ug/mL

Imagen N°1: Determinación de susceptibilidad a colistina por la técnica Drop Test.



El aislamiento 27512A es resistente (ausencia de halo de inhibición); los aislamientos 28252B y 28288C son sensibles (presencia de halo de inhibición).

Imágen N°2: Determinación de susceptibilidad a colistina por el método de predifusión.

A)



B)



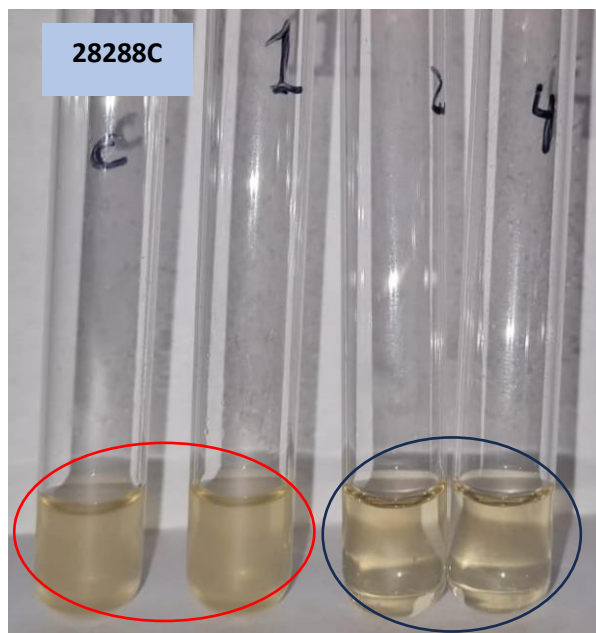
El aislamiento 27512A es resistente (ausencia de halo de inhibición); el aislamiento 28175A es sensible (presencia de halo de inhibición)

imagen N°4 (A y B): Determinación de susceptibilidad a COL mediante la técnica de elusión con discos de colistina.

A)



B)



El aislamiento 27512A resultó resistente mientras que el aislamiento 28288C fue sensible.

Discusión y conclusiones

En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que los 3 métodos evaluados en el ensayo son concordantes entre sí, ya que todos los aislamientos recuperados, por las tres técnicas ensayadas tuvieron los mismos resultados, evidenciando una altísima congruencia. Y que, de esta manera, tenemos 3 opciones válidas para evaluar la susceptibilidad a colistina en el laboratorio de microbiología, de acuerdo a las disponibilidades de las técnicas, pero teniendo en cuenta que el método de elución con discos COL nos devuelve un valor de CIM, es muy útil en determinadas infecciones severas, como por ejemplo una sepsis, en donde le permite al médico ajustar la dosis.

Perspectivas

Durante mi paso por el Hospital Provincial del Centenario comprendí que el mismo no escapa de la realidad mundial de la prevalencia de bacterias multi resistentes, y que colistina es una de las pocas drogas que se pueden utilizar en estos aislamientos. Por lo tanto, resulta interesante abordar la búsqueda de cepas resistentes a COL en hisopados anales de vigilancia epidemiológica, los cuales se realizan una vez por semana en las salas de cuidados críticos y cuentan con la determinación de patógenos y mecanismos de resistencia (cepas productoras de carbapenemasas, producción de betalactamasas de espectro extendido, aislamientos de Enterococos vancomicina resistente).

Una metodología recomendable para la pesquisa de cepas resistentes a COL podría ser el Drop Test, ya que es una técnica ágil, rápida y de bajo costo.

Bibliografía

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2015 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Tenth Edition. CLSI Document M07-A010, Wayne, PA

Humphries RM. Susceptibility Testing of the Polymyxins:Where Are We Now? 2015. Pharmacotherapy. 35:22-27

Chew KL, La MV, Lin RTP, Teo JWP. 2017.Colistin and Polymyxin B Susceptibility Testing for Carbapenem-Resistant and mcr-Positive Enterobacteriaceae: Comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with Broth Microdilution. J Clin Microbiol. Sep;55(9):2609-2616.

EUCAST. 2017. Warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures. Antimicrobial susceptibility testing of colistin - problems detected with several commercially available products. Available at:http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/. Accessed 4 August 2017.

Rojas LJ, Salim M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, Kalayjian RC, Watkins RR, Marshall S, Rudin SD, Domitrovic TN, Hujer AM, Hujer KM, Doi Y, Kaye KS, Evans S, Fowler VG Jr, Bonomo RA, van Duin D; Antibacterial Resistance Leadership Group. 2017. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory Detection and Impact on Mortality. Clin Infect Dis. 64:711-718

TF12

Alumna: Traverso, Valentina

Tutor Académico: Supersaxco, Raul

Lugar de realización: Hospital Provincial de Rosario

Póster



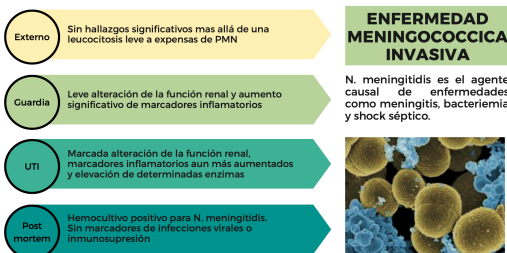
SHOCK SÉPTICO FULMINANTE EN PACIENTE AMBULATORIO

Traverso, Valentina; Supersaxco, Raul; Baras, Jaqueline.

1Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. 2 Hospital Provincial de Rosario

CASO CLÍNICO

Paciente acude al consultorio externo de la institución para análisis prequirúrgico que no arroja resultados destacables. Horas más tarde ingresa por guardia por síndrome febril y fallece en la madrugada. Días después se arriba al diagnóstico de meningococcemia.



IMPORTANCIA DE LA VACUNACIÓN

DATOS ESTADÍSTICOS

En Argentina la tasa de incidencia ha disminuido, pasando de 2,6 casos cada 100.000 habitantes por año en 1993 a 0,6 casos cada 100.000 habitantes por año en el 2005.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29328>

Monografía



Universidad
Nacional
de Rosario



Análisis de caso:
desenlace fatal y repentino horas después de consulta externa

Autor: Valentina Traverso

Tutor: Raul Supersaxco

Institución de rotación: Hospital Provincial de Rosario

PRESENTACIÓN

Hombre trans de 33 años de edad acude al consultorio externo del establecimiento el día 12/04/2024 por la mañana para realizarse un análisis prequirúrgico indicado por el área de traumatología. Horas más tarde, por la noche del mismo día, acude a la guardia de la institución donde consulta por fiebre, vómitos y diarrea. El paciente permanece internado y más tarde pasa a la Unidad de Terapia Intensiva. Pocas horas después fallece.

MARCO TEÓRICO

La enfermedad meningocócica es un grave problema de salud pública en muchos países del mundo. *Neisseria meningitidis* es el agente causal de enfermedades graves como meningitis, bacteriemia y síndrome de shock séptico. Estas enfermedades ocurren principalmente en niños de 6 meses a 4 años de edad y con frecuencia afectan también a jóvenes, aunque pueden presentarse casos a cualquier edad.

El reservorio natural es la nasofaringe y orofaringe humana, donde el microorganismo coloniza asintóticamente. También puede ser encontrado en otros lugares como la mucosa oral, el recto y tracto urogenital.

Existen 12 serogrupos de *N. meningitidis* (A, B, C, X, Y, Z, 29E, W135, H, I, K, L) de acuerdo al polisacárido capsular. Sólo cinco de ellos, A, B, C, Y y W135, son causa frecuente de enfermedad invasiva.

La probabilidad de que a partir de la portación se desarrolle la enfermedad invasiva es altamente dependiente de la cepa adquirida y de las condiciones del hospedador y su entorno. Existen factores que favorecen la diseminación y la colonización, como el hacinamiento y el humo del tabaco o de la leña; asimismo se han descrito factores de riesgo vinculados al hospedador y asociados al desarrollo de la enfermedad meningocócica, tales como infecciones virales, sistema inmune inmaduro o alterado (inmunodeficiencia humoral, déficit de componentes terminales del complemento C5-C9, déficit de properdina), irritación nasofaríngea, tabaquismo, hacinamiento, contacto estrecho con un caso, viajeros/residentes en zonas endémicas y falta de anticuerpos bactericidas contra la cepa infectante, lo que podría explicar que la mayoría de los casos ocurren en personas previamente sanas sin factores de riesgo identificados. La susceptibilidad a las infecciones por el meningococo es universal.

Las primeras vacunas disponibles fueron las de polisacáridos. Estas vacunas jugaron un papel importante en el control de brotes/epidemias y aún siguen siendo indicadas para este propósito. Sin embargo, debido a sus limitantes, están siendo gradualmente reemplazadas por las vacunas conjugadas.

Existen vacunas polisacáridicas conjugadas, con eficacia demostrada para los serogrupos A, C, Y y W135, pero para el serogrupo B no existe una vacuna apropiada, debido a la baja inmunogenicidad del polisacárido capsular.

En Argentina la tasa de incidencia ha disminuido, pasando de 2,6 casos cada 100.000 habitantes por año en 1993 a 0,6 casos cada 100.000 habitantes por año en el 2005, según datos del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud de la Nación.

La vacuna antimeningocócica conjugada tetravalente (ACYW) es la que se encuentra disponible gratuitamente en el Calendario Nacional de Vacunación para proteger contra las infecciones graves causadas por meningococo (enfermedad meningocócica invasiva) y sus potenciales complicaciones.

Existen dos esquemas diferenciados según etapa de la vida:

Lactantes:

- 1era dosis: 3 meses de vida
- 2da dosis: 5 meses de vida
- 1er refuerzo: 15 meses de vida

Estas dosis tienen el objetivo de proteger de la enfermedad al grupo etario mas vulnerable y con mayor riesgo de enfermar y morir

Adolescentes:

- Una dosis única: 11 años

RESULTADOS

Análisis prequirúrgico 12/04/2024:

HEMOGRAMA COMPLETO CON PLAQUETAS

Leucocitos	12.86 mil/mm ³
Hematíes	5.06 millon/mm ³
Hemoglobina	16.05 g/dl
Hematocrito	48.91 %

Vol. Corp. Medio (MCV)	96.58 fl	80 - 100 fL
Hgb Corp. Media (MCH)	31.69 pg	26 - 34 pg
Conc. Hgb Corp. Media	32.81 g/dl	31 - 37 g/dl
Rto. de Plaquetas	255 mil/mm3	150 - 400 mil/mm3
Dist.Eritr./Vol.Corp. (RDW)	11.89 %	11 - 15 %
Vol Plaquetario Medio	9.44 u3	8 - 12 u3

Fórmula leucocitaria

Neutrófilos Absolutos	10.32 mil/mm3
Neutrófilos	80.27 %
Eosinófilos Absolutos	0.38 mil/mm3
Eosinófilos	2.92 %
Basófilos Absolutos	0.08 mil/mm3
Basófilos	0.62 %
Linfocitos Absolutos	1.70 mil/mm3
Linfocitos	13.25 %
Monocitos Absolutos	0.38 mil/mm3
Monocitos	2.94 %

COAGULOGRAMA

TP con RIN

TP	10.2 seg	
Tasa	120.0 %	70-120%
RIN	0.90	

KPTT

KPTT	23.6 seg	22 - 32 seg
------	----------	-------------

QUIMICA

GLICEMIA	96 mg/dl	70 - 110 mg/dl
UREMIA	26 mg/dl	10 - 50 mg/dl
CREATININEMIA	0.78 mg/dl	0.6 - 1.2 mg/dl
IFG	Mayor a 60 mL/min	

IONOGRAMA SÉRICO

Sodio	138.0 mEq/l	135.0 - 145.0 mEq/l
Potasio	4.1 mEq/l	3.5 - 4.8 mEq/l
Cloruro	100.5 mEq/l	95.0 - 110.0 mEq/l
COLINESTERASA SÉRICA	7 681 mUI/ml	3500 - 15000 mUI/ml

Análisis servicio de guardia 12/04/2024:

HEMOGRAMA COMPLETO CON PLAQUETAS

Leucocitos	6.99 mil/mm ³	
Hematíes	4.68 millon/mm ³	
Hemoglobina	14.90 g/dl	
Hematocrito	45.27 %	
Vol. Corp. Medio (MCV)	96.72 fl	80 - 100 fl
Hgb Corp. Media (MCH)	31.84 pg	26 - 34 pg
Conc. Hgb Corp. Media	32.92 g/dl	31 - 37 g/dl
Rto. de Plaquetas	139 mil/mm ³	150 - 400 mil/mm ³
Dist.Eritr./Vol.Corp. (RDW)	11.75 %	11 - 15 %
Vol Plaquetario Medio	10.03 u ³	8 - 12 u ³

Fórmula Leucocitaria

Neutrófilos Absolutos	5.88 mil/mm ³
Neutrófilos	84.21 %
Eosinófilos Absolutos	0.05 mil/mm ³
Eosinófilos	0.65 %
Basófilos Absolutos	0.06 mil/mm ³
Basófilos	0.80 %
Linfocitos Absolutos	0.84 mil/mm ³
Linfocitos	11.96 %
Monocitos Absolutos	0.17 mil/mm ³
Monocitos	2.38 %

ERITROSEDIMENTACIÓN	3 mm/h
---------------------	--------

QUÍMICA

GLICEMIA	76 mg/dl	70 - 110 mg/dl
UREMIA	40 mg/dl	10 - 50 mg/dl
CREATININEMIA	2.72 mg/dl	0.6 - 1.2 mg/dl
IONOGRAMA SÉRICO		
Sodio	139.0 mEq/l	135.0 - 145.0 mEq/l
Potasio	3.1 mEq/l	3.5 - 4.8 mEq/l
Cloruro	96.2 mEq/l	95.0 - 110.0 mEq/l
HEPATOGRAMA.		
GOT	22 UI/l	0 - 40 UI/l
GPT	15 UI/l	0 - 41 UI/l
FOSFATASA ALCALINA	137 UI/l	Hombres:40 - 129 UI/l
BILIRRUBINEMIA		
BILIRRUBINEMIA TOTAL	1.76 mg/dl	hasta 1.20 mg/dl
DIRECTA	0.44 mg/dl	hasta 0.20 mg/dl
INDIRECTA	1.32 mg/dl	hasta 1.00 mg/dl
AMILASEMIA	245 UI/l	28 - 100 UI/l
GGT	36 UI/l	8 - 61 UI/l
CPK	168 UI/l	0 - 190 UI/l
PROTEÍNA C REACTIVA	9.2 mg/dl	0.0 – 0.5 mg/dl
PROCALCITONINA	104.20 ng/ml	< a 0.5 ng/ml:BAJO RIESGO DE SEPSIS SEVERA > a 2.0 ng/ml ALTO RIESGO DE SEPSIS SEVERA

Análisis servicio UTI 13/04/2024:

HEMOGRAMA COMPLETO CON PLAQUETAS

Leucocitos	6.32 mil/mm ³	
Hematíes	4.44 millón/mm ³	
Hemoglobina	14.34 g/dl	
Hematocrito	43.09 %	
Vol. Corp. Medio (MCV)	97.15 fl	80 - 100 fL
Hgb Corp. Media (MCH)	32.34 pg	26 - 34 pg

Conc. Hgb Corp. Media	33.29 g/dl	31 - 37 g/dl
Rto. de Plaquetas	26 mil/mm ³	150 - 400 mil/mm ³ remitir nueva muestra para confirmar
Dist.Eritr./Vol.Corp. (RDW)	12.09 %	11 - 15 %
Vol Plaquetario Medio	10.30 u ³	8 - 12 u ³

Fórmula Leucocitaria

Neutrófilos Absolutos	5.00 mil/mm ³
Neutrófilos	79.22 %
Eosinófilos Absolutos	0.16 mil/mm ³
Eosinófilos	2.50 %
Basófilos Absolutos	0.06 mil/mm ³
Basófilos	0.87 %
Linfocitos Absolutos	0.92 mil/mm ³
Linfocitos	14.61 %
Monocitos Absolutos	0.18 mil/mm ³
Monocitos	2.80 %

ERITROSEDIMENTACIÓN	4 mm/h
---------------------	--------

QUÍMICA

GLICEMIA	105 mg/dl	70 - 110 mg/dl
UREMIA	53 mg/dl	10 - 50 mg/dl
CREATININEMIA	3.26 mg/dl	0.6 - 1.2 mg/dl
IONOGRAMA SÉRICO		
Sodio	137.0 mEq/l	135.0 - 145.0 mEq/l
Potasio	3.2 mEq/l	3.5 - 4.8 mEq/l
Cloruro	100.2 mEq/l	95.0 - 110.0 mEq/l
HEPATOGRAMA.		
GOT	68 UI/l	0 - 40 UI/l
GPT	24 UI/l	0 - 41 UI/l
FOSFATASA ALCALINA	124 UI/l	40 - 129 UI/l
BILIRRUBINEMIA		

BILIRRUBINEMIA TOTAL	1.68 mg/dl	hasta 1.20 mg/dl
DIRECTA	0.42 mg/dl	hasta 0.20 mg/dl
INDIRECTA	1.26 mg/dl	hasta 1.00 mg/dl
AMILASEMIA	777 UI/l	28 - 100 UI/l
GGT	29 UI/l	8 - 61 UI/l
LDH	430 U/L	135-225 U/L
CPK	2 398 UI/l	0 - 190 UI/l
CALCEMIA TOTAL	7.2 mg/dl	8.5 - 10.5 mg/dl
FOSFATEMIA	5.3 mg/dl	2.5 - 4.5 mg/dl
MAGNESEMIA	1.10 mg/dl	1.58 - 2.55 mg/dl
PROTEÍNA C REACTIVA	11.7 mg/dl	0.0 – 0.5 mg/dl

SEROLOGÍA

VDRL NO REACTIVO

HBV: AC. ANTI HBSAG 312.92 mIU/mL > 12 mUI/ml: REACTIVO

HCV ANTICUERPOS NO REACTIVO

ACIDO BASE ESTADO Y OXIMETRÍA

pH	7.03	
pO ₂	38.40 mmHg	
pCO ₂	40.40 mmHg	
HCO ₃ ⁻	10 meq/l	
Saturación de O ₂	63.40 %	
Exceso de bases	-20.0 mEq/l	
ÁCIDO LÁCTICO	103.40 mg/dl	Sangre venosa: 4.5 - 20.0 mg/dl Sangre arterial: 4.5 - 15.0 mg/dl

Hemocultivo automatizado:

Examen Directo (G-N) Diplococos Gram negativos

Cultivo *N. meningitidis*

NEISSERIA MENINGITIDIS: serogrupo por PCR

Serogrupo B.	ND
Serogrupo C.	DETECTABLE
Serogrupo Y.	ND
Serogrupo W135.	ND

Examen Directo (GN) cocos Gram positivos en cadena y cocos Gram negativos

Cultivo cocos Gram positivos y cocos Gram negativos

Identificación 1 Neisseria meningitidis

Identificación 2 Estafilococo coagulasa negativa

Análisis realizados post mortem:

SEROLOGÍA

DENGUE NS1- IGG NO REACTIVO

DENGUE NS1- IGM NO REACTIVO

DENGUE ANTIGENEMIA NS1 NO REACTIVO

LEPTOSPIRA, AC. IGM ANTI NO REACTIVO

HANTA VIRUS: AC. NO REACTIVO

PCR

DENGUE

Dengue1 NO DETECTABLE

Dengue2 NO DETECTABLE

Dengue3 NO DETECTABLE

Dengue4 NO DETECTABLE

LEPTOSPIRA NO DETECTABLE

FIEBRE HEMORRÁGICA NO DETECTABLE

HIV: AG-AC NO REACTIVO

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

No se observaron hallazgos significativos en el análisis prequirúrgico, más allá de una leve leucocitosis a expensas de PMN que por sí sola no es específica.

El laboratorio realizado por guardia denota una afectación renal y elevación importante de marcadores inflamatorios. Cuadro que progresa, como se observa en el análisis realizado durante la estadía del paciente en UTI.

Los resultados del hemocultivo se obtuvieron post mortem y fueron cruciales para arribar al diagnóstico.

En conclusión, el paciente desarrolló una meningococemia aguda y fatal en cuestión de horas.

No se encontraron focos de infección ni factores de riesgo asociados como inmunosupresión o infecciones virales. Debido a esto se asume que el paciente no había sido vacunado, mientras que el foco de la infección continúa siendo una incógnita.

PERSPECTIVAS

El control de la enfermedad meningocócica es un problema de salud de alta prioridad, debido a las elevadas tasas de mortalidad asociadas a las infecciones invasivas, a las graves secuelas y a su naturaleza epidémica.

El relevamiento de la prevalencia de serogrupos es fundamental para la toma de decisiones relacionadas con estrategias de vacunación, dado que las vacunas disponibles son serogrupo capsular específicas.

Actualmente se recomienda realizar la identificación de los serogrupos mediante PCR, con cebadores específicos para los genes capsulares, por su mayor especificidad.

Considerando que la epidemiología del meningococo es impredecible, dinámica, con cambios en corto tiempo y brotes cada 8 a 12 años, requiere de una vigilancia sistemática y estricta en cada país. Es necesario educar a los equipos de salud y a la población en estrategias tendientes al diagnóstico y tratamiento lo más precoz posible e implementación de medidas de profilaxis efectiva, además de la toma de decisiones respecto de la incorporación de vacunas específicas.

BIBLIOGRAFÍA

Rapoport, A. M., & Rothrock, J. C. (2007). *Abordaje terapéutico en la cefalea crónica: hacia una mejor comprensión y tratamiento*. *Revista de Neurología*, 44(1), 29-38.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412007000100007&lang=en

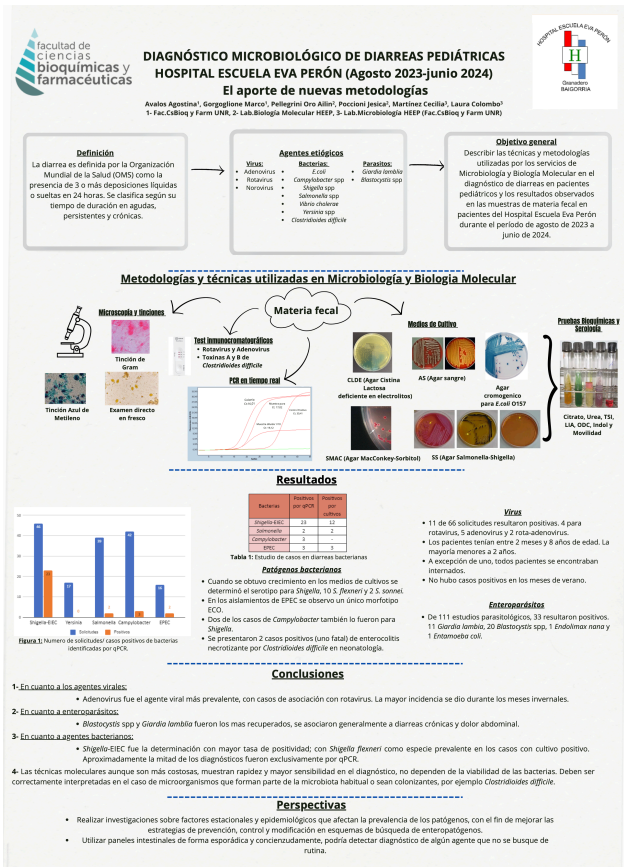
Díaz, R. A., & Pérez, J. P. (2020). *Actualización en la prevención y tratamiento de la meningitis meningocócica*. *Revista de Neurología*, 56(2), 142-150.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412020000200031&lang=en

Silva, M. F., & Almeida, L. M. (2021). *Desafíos en el manejo de enfermedades infecciosas en América Latina*. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 79(3), 201-209.
<https://www.scielo.br/j/anp/a/7MzHXK7cfsLwDfFB3tCmVss/?lang=en>

González, A. R., & Sánchez, C. G. (2012). *Impacto de la vacunación contra meningococo en Chile*. *Revista Chilena de Infectología*, 29(6), 493-500.
https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062012000600002

Argentina.gob.ar. (n.d.). *Novedades sobre la vacuna contra el meningococo*. Ministerio de Salud. <https://www.argentina.gob.ar/salud/vacunas/novedadmeningococo>

Organización Panamericana de la Salud. (n.d.). *Meningococo*.
<https://www.paho.org/es/temas/meningococo>



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29329>

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE DIARREAS PEDIÁTRICAS
HOSPITAL ESCUELA EVA PERÓN (Agosto 2023-junio 2024)
El aporte de nuevas metodologías

TRABAJO FINAL Práctica Profesional obligatoria 2024
Laboratorio de Microbiología Hospital Escuela Eva Perón

Autores:

Avalos, Agostina

Gorgoglione, Marco

Tutor:

Colombo, Laura

Objetivo General:

Describir las técnicas y metodologías utilizadas por los servicios de Microbiología y Biología Molecular en el diagnóstico de diarreas en pacientes pediátricos y los resultados observados en las muestras de materia fecal en pacientes del Hospital Escuela Eva Perón durante el período de agosto de 2023 a junio de 2024.

Objetivos Específicos:

1. Determinar la frecuencia y describir los agentes etiológicos de infección por virus, bacterias y parásitos en muestras fecales de pacientes menores de 15 años con diarrea en el periodo de estudio Agosto 2023-Junio 2024.
2. Comparar el rendimiento diagnóstico de los métodos tradicionales frente a las técnicas de biología molecular (PCR en tiempo real) en la identificación de agentes patógenos bacterianos.

Marco Teórico:

Definición:

La diarrea es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la presencia de 3 o más deposiciones líquidas o sueltas en 24 horas . Es un motivo muy frecuente de consultas ambulatorias e internaciones a nivel mundial, sobre todo en países subdesarrollados o en vías de desarrollo; particularmente en menores de 5 años. Se asocia fuertemente a la falta de acceso a agua y alimentos seguros.

Se clasifica según su tiempo de duración en:

1. Agudas: menos de 14 días.
2. Persistente: de 14 a 29 días.
3. Crónicas: 30 días o más.

La disentería es la presencia de deposiciones diarreicas con sangre y/o pus y/o moco, generalmente acompañadas de fiebre y dolor abdominal.

Para caracterizarlas es fundamental realizar un cuidadoso interrogatorio, recabando datos epidemiológicos como el acceso a agua potable, el consumo de alimentos no aptos (lácteos no pasteurizados, carnes o pescados mal cocidos, huevos, productos de campo artesanales,

consumo de frutas o vegetales mal lavados), antecedentes de viajes recientes, posibilidad de contaminación cruzada, presencia de casos relacionados (brotes).

Etiología:

Los episodios diarreicos de origen infeccioso pueden ser producidos por diversos agentes etiológicos: virus, bacterias, toxinas bacterianas o parásitos. La etiología viral es la más frecuente tanto en los países desarrollados como en los en vía de desarrollo, en estos últimos la etiología bacteriana y parasitaria se tornan más frecuentes.

La disentería es producida por bacterias que invaden y destruyen la mucosa intestinal, algunas de las cuales pueden pasar al torrente sanguíneo provocando infección sistémica (*Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp, o *Escherichia coli* enteroinvasivo y enterohemorrágico). La diarrea del viajero puede ser de etiología bacteriana, por protozoos, helmintos o virus. A nivel mundial, las causas más comunes son *Escherichia coli* (enterotoxigénico y enteroagregativo) y *Campylobacter* spp. En las personas con diarrea persistente debe sospecharse la presencia de infecciones parasitarias principalmente por *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*.

A continuación se describen brevemente los patógenos más frecuentemente asociados a diarreas en nuestra región:

Dentro de los principales agentes virales en pacientes pediátricos encontramos *Rotavirus* y *Adenovirus*. El primero es el principal agente causante de diarrea en la población pediátrica, tiene un periodo de incubación de 1 a 3 días y se autolimita en 5 a 7 días. Respecto a *Adenovirus*, los serotipos 40 y 41 están relacionados con enfermedades diarreicas en la población pediátrica; es agente causal de brotes epidémicos.

En relación a los enteroparásitos destacamos a *Giardia lamblia*, un protozoo de amplia distribución mundial y de indudable acción patógena que puede causar diarreas disenteriformes, duodenitis, yeyunitis y colonizar la vesícula biliar y a *Blastocystis* spp, el protista se detecta con mayor frecuencia en muestras de materia fecal humana. Varias publicaciones lo reconocen como agente etiológico de desórdenes intestinales aunque la patogenicidad de este parásito no es universalmente aceptada.

En cuanto a las bacterias de mayor relevancia encontramos:

E.coli: enteroinvasivo y enterohemorrágico son agentes causales de disentería, *E.coli* enterotoxigénico es responsable de la diarrea del viajero . *E.coli* enterohemorrágico productor de toxina shiga(O157:H7es el prototipo)es responsable del síndrome uremico hemolítico, este agente debe sospecharse ante la presencia de diarrea sanguinolenta en personas con antecedentes de consumo de carne mal cocida. *Escherichia coli* enteropatógeno(EPEC) se jerarquiza solamente en menores de 2 años salvo en situaciones particulares.

Campylobacter spp. las infecciones por *Campylobacter* suelen ser leves, pero pueden ser más serias en niños muy pequeños, personas de edad e inmunodeprimidos. Su principal reservorio son las aves. Los síntomas clínicos más frecuentes son diarrea (frecuentemente sanguinolenta), dolor abdominal, fiebre, dolor de cabeza, náuseas y/o vómitos, y duran por lo general de 3 a 6 días.

Shigella spp. produce disentería. *Shigella sonnei* es la más frecuente en países desarrollados, pueden provocar brotes. *Shigella flexneri* es un agente endémico en países en desarrollo, provoca cuadros más graves, inclusive cuadros neurológicos. Raramente causa bacteriemia.

Salmonella no Typhi: los animales tanto domésticos como silvestre son su principal reservorio(existen portadores humanos sanos). Genera enfermedad leve autolimitada en la mayoría de los casos. En el 2% al 4% de los casos puede ocurrir bacteriemia con riesgo de enfermedad grave principalmente en niños pequeños, adultos mayores e inmunocomprometidos.

Salmonella Typhi o *Paratyphi A, B, o C* : los seres humanos son el único reservorio para *Salmonella Typhi* que causa fiebre tifoidea una enfermedad infecciosa que se transmite por agua o alimentos contaminados con heces, mientras que *Salmonella Paratyphi* también tiene reservorios animales y causa casos de menor gravedad . Los seres humanos pueden llevar las bacterias en el intestino durante mucho tiempo (portadores crónicos)

Vibrio cholerae: más frecuentes en países en desarrollo únicamente los serogrupos O1 y O139 provocan cuadros severos, brotes y epidemias.

Yersinia spp. es un patógeno invasivo entérico, especialmente en personas de corta edad. Los cuadros clínicos más frecuentes producidos por este agente son: enterocolitis, ileítis

terminal, linfadenitis mesentérica, sepsis y otros cuadros extraintestinales. En los casos de enterocolitis, se presenta la diarrea, con fiebre de bajo grado y dolor abdominal, con presencia de leucocitos y sangre en las heces.

Clostridioides difficile: es responsable de la mayor parte de las diarreas intrahospitalarias por acción de sus toxinas. Genera desde cuadros leves de diarrea hasta eventos fulminantes asociados con la formación de pseudomembranas y megacolon tóxico. Se transmite tanto desde fuentes endógenas como exógenas (sábanas, baños, fómites, utensilios médicos, personal de salud, contacto con pacientes infectados).

Metodologías y técnicas utilizadas en Microbiología:

En el Servicio de Microbiología del Hospital Escuela Eva Perón se cuenta con las siguientes herramientas para identificar el agente causal:

- Examen directo en fresco: Permite encontrar enteroparásitos, la toma de muestra de manera seriada mejora la sensibilidad debido a la variabilidad de la carga parasitaria en el tiempo. Agregar una gota de azul de metileno permite visualizar leucocitos con mayor facilidad.
- Tinción de Gram: No es de gran ayuda debido a la naturaleza polimicrobiana de la muestra, pero sirve para inferir la presencia de un desbalance de la microbiota intestinal.
- Test inmunocromatográficos para la detección de rotavirus y adenovirus (en especial en pacientes pediátricos) y toxinas de *Clostridioides difficile*.
- Coprocultivos: A partir de heces frescas, sin conservantes. La muestra se debe llevar al laboratorio a la brevedad posible.

Para esto se utilizan 4 medios distintos:

- ❖ SMAC (Agar MacConkey-Sorbitol): Este medio permite la diferenciación de *E.coli* O157 de otras cepas de *E.coli*, ya que a diferencia de estas *E.coli* O157, no fermenta sorbitol y sus colonias son transparentes mientras que el resto fermentan el sorbitol acidificando el medio lo que produce el viraje del indicador (rojo neutro) que resulta en colonias rosas. Puede también utilizarse un medio cromogénico que separa estos dos tipos de colonias con mayor claridad.

- ❖ CLDE (Agar Cistina Lactosa deficiente en electrolitos): Es un medio diferencial utilizado para recuperación de bacilos gramnegativos. Diferencia los diferentes microorganismos según su capacidad de utilización de lactosa.
- ❖ SS (Agar Salmonella-Shigella): Medio medianamente inhibidor. Permite diferenciar entre organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa (*Salmonella* y *Shigella*) que originan colonias rosadas y transparentes respectivamente. La producción de SH₂ evidenciada como un punto negro en el centro de la colonia orienta a la presencia de *Salmonella* spp.
- ❖ AS (Agar sangre): Permite identificar microorganismos productores de hemólisis, como *Aeromonas* y *Vibrio*.

Si en los medios de cultivos se obtiene desarrollo de colonias Sorbitol negativas o Lactosa negativas se pueden utilizar las siguientes pruebas bioquímicas que son de ayuda para diferenciar de qué microorganismo se trata:

	Citrato	Urea	LIA	TSI	Movilidad	ODC	Indol
<i>Salmonella</i> spp	+	-	+	K/Ac	+	+	-
<i>Shigella</i> spp	-	-	-	K/Ac	-	-	+/-
EIEC	-	-	-	K/Ac	-	+/-	+/-

Hay una relación filogenética y bioquímica estrecha entre *Shigella* y EIEC, por lo cual es difícil poder identificarlas. Una prueba útil para esto es la prueba del Acetato, el cual en algunas ocasiones permite diferenciarlas pero esto solo se lo hace con fines epidemiológicos ya que no tiene relevancia clínica. El diagnóstico se completa con serología, que en el género *Shigella* coincide con las especies.

Ante colonias lactosa negativas y sorbitol positivos, y con las siguientes pruebas bioquímicas: TSI K/Ac, LIA - y Urea +, continuar con otras pruebas bioquímicas para descartar *Yersinia enterocolítica*.

Técnicas de biología molecular para el diagnóstico de agentes causales de diarreas:

En base a la clínica del paciente o grupo etario al que pertenece se puede solicitar una PCR en tiempo real. Las muestras remitidas al servicio de Biología Molecular para las determinaciones pueden ser materia fecal del paciente en estudio o una colonia sospechosa indicada por el servicio de microbiología que haya desarrollado en el cultivo de la muestra del paciente.

Muestras y Extracción de Material Genético:

Materia Fecal del Paciente:

- Se utiliza una muestra diluida en PBS como medio conservador, el ADN se extrae utilizando columnas con filtro de silica del kit High Pure PCR Template Preparation de Roche y se añade un control interno previo a la extracción del ADN para validar la eficiencia del proceso.

Colonias de Interés:

- Se utiliza una colonia bacteriana reislada en un medio sin azúcares agregados, se realiza una suspensión en agua calidad PCR y se purifica mediante la técnica de shock térmico (boiling).

Preparación para PCR:

- Para las determinaciones *Salmonella/ Shigella/ Yersinia / Campylobacter* se realiza una PCR multiplex con un kit comercial de Roche en el termociclador Cobas Z 480.
- Para EPEC se utiliza un kit comercial de Primer design que detecta la presencia del gen eae.

Los cebadores y sondas utilizan el principio TaqMan, que consiste en que en la misma mezcla de reacción se incluye una sonda fluorogénica marcada con un colorante y un quencher (extintor). Durante la amplificación por PCR, la sonda se escinde gracias a la capacidad endonucleasa de la Polimerasa y se separan el fluoróforo y el extintor generando fluorescencia. Esta señal es detectada en cada ciclo y el software acoplado la transforma en un gráfico de fluorescencia vs número de ciclos. Para cada curva graficada existe un valor de

Ct, conocido como el número de ciclo en el cual la señal aumenta exponencialmente superando el umbral de fluorescencia. El valor de Ct puede relacionarse inversamente con la concentración inicial del target en a detectar en la muestra. Al usar distintos fluoróforos que emiten a distintas longitudes de ondas es posible detectar varios targets en una misma mezcla de PCR siempre y cuando no haya superposición de las señales.

Validación del Proceso:

- ❖ Control Interno de Extracción de ADN: Se utiliza ADN control agregado previo a la extracción de ácidos nucleicos como estándar exógeno, amplificado con sondas específicas. Su presencia valida la correcta extracción y la ausencia de inhibidores de PCR.
- ❖ Control Endógeno: Basado en la amplificación de un gen presente en todas las muestras, asegura la cantidad adecuada de material biológico, confirma la correcta ejecución de la extracción del ADN y la ausencia de inhibidores de PCR.
- ❖ Control Negativo: Se incluye una reacción de control negativo con agua libre de ARNasa/DNasa reemplazando a la muestra para descartar contaminaciones de reactivos.
- ❖ Control Positivo: Se incluye una reacción de control positivo con un eluato conocido con la presencia del target a detectar. Verifica la funcionalidad de la mezcla de reacción y la validez de los resultados obtenidos. En caso de no obtener señal los resultados de la prueba no son válidos y deben repetirse. Se deben manipular con cuidado para evitar contaminaciones.

Especificidad de los Cebadores:

- ★ EPEC (Enteropathogenic Escherichia coli): Los cebadores se dirigen al gen eae, que codifica la intimina, una proteína de membrana que media la adherencia de la bacteria a los enterocitos.
- ★ *Shigella* y EIEC (Enteroinvasive Escherichia coli): Los cebadores van dirigidos hacia el gen del antígeno plasmídico de invasión H (ipaH), el cual está relacionado con la entrada y diseminación del patógeno. No es posible diferenciar *Shigella* y EIEC por esta qPCR debido a que comparten el mismo gen target.

Resultados:

En el período agosto 2023-junio 2024 se solicitaron 66 pruebas para la identificación de rotavirus y adenovirus, de las cuales 11 fueron positivas(4 corresponden a rotavirus, 5 a adenovirus y 2 rota-adenovirus). Los pacientes tenían entre 2 meses y 8 años, la mayoría en menores de 2 años de edad. Todos los pacientes positivos se encontraban internados. El diagnóstico se realizó utilizando test inmunocromatográficos.

Se solicitaron 111 estudios parasitológicos, la mayoría con diagnóstico de diarrea crónica o dolor abdominal de los cuales 33 fueron positivos. 11 correspondientes a *Giardia lamblia* en pacientes de 18 meses a 11 años de edad; 20 fueron positivos para *Blastocystis spp* la mayoría en mayores de 4 años; 1 caso positivos de *Entamoeba coli* y 1 de *Endolimax nana*. La identificación se realizó a partir del examen directo en fresco y sobre muestras seriadas

En cuanto a la identificación de bacterias en muestras de materia fecal se obtuvieron:

Shigella-EIEC: De 46 solicitudes, 23 fueron positivas (12 se identificaron a través del cultivos y qPCR, 11 solo por qPCR). Cuando se obtuvo crecimiento en los medios de cultivos se determinó el serotipo para *Shigella*, 10 *S. flexneri* y 2 *S. sonnei*.

Yersinia: Ingresaron 17 solicitudes las cuales todas fueron negativas.

Salmonella: Se obtuvieron 2 casos positivos (tanto en cultivos como por qPCR) de 39 casos estudiados.

Campylobacter: Se obtuvieron 3 casos positivos (por qPCR) de 42 solicitudes realizadas; 2 de los cuales estaban asociados a *Shigella*.

EPEC: Se procesaron 16 muestras de las cuales 3 fueron positivas (tanto en cultivos como por qPCR), ambas en menores de 2 años correspondientes a 2 casos ambulatorios y 1 internado. En los cultivos se observó un único morfotipo de ECO.

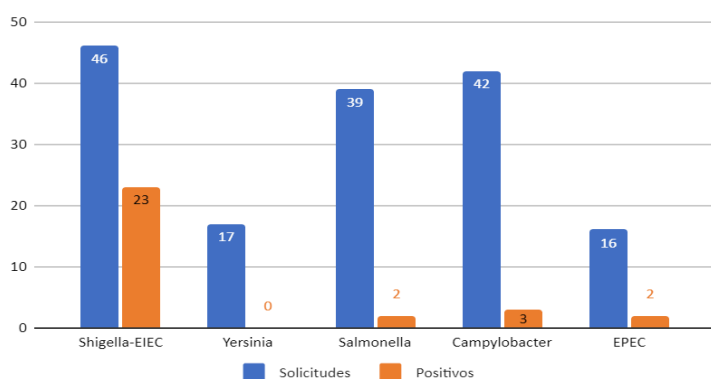


Figura N1- Bacterias identificadas por qPCR. Se observa en número de solicitudes (azul) en comparación con los casos positivos (naranja) de cada una de las bacterias descritas.

Clostridioides difficile: se presentaron 2 casos positivos en el área de neonatología correspondientes a mellizos, de los cuales uno falleció por perforación intestinal mientras que el otro niño tuvo un cuadro más leve con 1 de 3 muestras positivas. El diagnóstico se realizó por inmunocromatografía para toxinas A y B.

Discusión y conclusiones:

En lo que respecta a las infecciones virales, un 16.7% de las pruebas resultaron positivas. La introducción de la vacuna contra el rotavirus en el Calendario Nacional de Vacunación ha demostrado tener un impacto significativo en la incidencia y el perfil epidemiológico de las diarreas por rotavirus en la población pediátrica. En particular, se ha observado un cambio notable en la edad de presentación de estas infecciones. Se ha evidenciado un retraso en la aparición de diarreas por rotavirus a niños mayores, desplazando la edad de presentación hacia los 4 y 8 años. Esto se debe a que la vacunación ha reducido la incidencia de casos graves en los primeros años de vida. En los casos de diarreas por adenovirus para el cual no se dispone de vacuna, la mayoría de los casos positivos fueron en niños menores de 2 años. No se encontraron casos positivos de los patógenos virales durante los meses de verano. La mayoría de los casos se concentraron en los meses invernales, lo que coincide con la literatura existente sobre la mayor incidencia de diarrea viral en esta época. Respecto a las diarreas causadas por parásitos un 29.7% resultaron positivas. *Giardia lamblia* fue más frecuente en niños de 18 meses a 11 años, mientras que *Blastocystis* spp fue predominante en mayores de 4 años.

En cuanto a las diarreas bacterianas, las determinaciones para *Shigella*-EIEC tuvieron una alta tasa de positividad del 50% (23 de 46 solicitudes) en pacientes de entre 11 meses y 12 años, con predominio en menores de 5 años. La mayoría de los casos fueron identificados por qPCR, indicando que algunos patógenos pueden no crecer en medios de cultivo tradicionales ya sea debido a cepas más lábiles, a materia fecal con baja carga bacteriana o problemas en toma y conservación de muestras. Se observó un predominio de *Shigella flexneri* entre los casos positivos de enterobacterias.

Las infecciones por *Salmonella* y *Campylobacter* fueron menos frecuentes, con tasas de positividad del 5.1% y 7.1%, respectivamente. Sin embargo, es notable que 2 de los 3 casos

de *Campylobacter* estaban asociados con *Shigella*, lo que indicaría la posibilidad de coinfecciones. EPEC en menores de tuvo una baja tasa de positividad (12.5%)

Respecto a los aportes de la Biología Molecular (qPCR) podemos destacar que: tienen mayor sensibilidad que los medios de cultivos, lo que permite identificar los microorganismos cuando se encuentren presentes en bajas cantidades. No requieren que estos sean viables, ya que se basan en la amplificación de una parte de su material genético. En los casos de *Shigella* identificadas solamente por qPCR y que no han podido ser aisladas, el Ct nos podría orientar si es debido a una baja carga bacteriana en las muestras o si se tratan de cepas más lábiles. A diferencia del aislamiento a través de medios de cultivos, son técnicas rápidas que permiten obtener el resultado a las pocas horas de entrada de la muestra. Como principales desventajas: es un método costoso que requiere equipos y personal capacitado, que no todos los centros de salud disponen; y en casos que se sospeche de diarreas por patógenos colonizantes (Por ejemplo *Clostridioides difficile* en pacientes pediátricos) deben ser cuidadosamente evaluadas.

Perspectivas:

Estudios Epidemiológicos Adicionales: Llevar a cabo investigaciones sobre los factores estacionales y epidemiológicos que afectan la prevalencia de los patógenos virales y bacterianos, con el fin de mejorar las estrategias de prevención, control y modificación en esquemas de búsqueda e identificación de enteropatógenos. La utilización de paneles gastrointestinales comerciales que investigan una gran cantidad de microorganismos esporádica y concienzudamente podría detectar subdiagnóstico de algún agente que no se busque con tanta frecuencia o de rutina.

Bibliografía

- del Coco, V. F., Molina, N. B., & Córdoba, M. A. (2017). Blastocystis spp.: avances, controversias y desafíos. *Revista Argentina de Microbiología*.
- Herráez, Á. (2012). *Biología Molecular e Ingeniería Genética* (2a ed.). Elsevier.
- Jorgensen, J. H., & Pfaller, M. A. (2011). *Manual of Clinical Microbiology* (11th ed.).
- Mandell, G. L., Bennet, J. E., & Dolin, R. (2012). *Mandell, Douglas y Bennet. Enfermedades Infecciosas. Principios y prácticas*. (7a ed.).
- Ministerio de Salud de la Nación. *Algoritmo de manejo ambulatorio de Diarrea infecciosa*. (2023).<https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2023-12/algoritmo-manejo-de-diarrea.pdf>
- OMS. (2024, March 7). Enfermedades diarreicas. Retrieved August 6, 2024, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
- Salam, M., Lindberg, G., Dite, P., & Khalif, I. (2012). *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología*. (Vol. 24).
- Sociedad Argentina de Pediatría Consenso Nacional *DIARREA AGUDA EN LA INFANCIA*. (2003). *Actualización de criterios diagnósticos y tratamiento* <https://www.sap.org.ar/uploads/consensos/consenso-de-diarreas-agudas-en-la-infancia.pdf>

Alumna: Majluff, Dolores

Tutor Académico: Micucci, María Lorena

Lugar de realización: Hospital Provincial del Centenario

Póster



Monitorización de inmunosupresores:
Tacrolimus



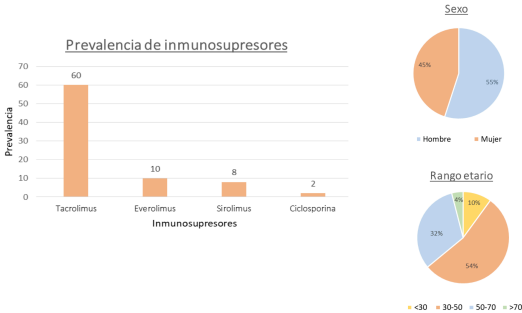
Dolores, Majluff¹; Gandara, Betiana¹; Crescimbeni, Jorgelina²; Micucci María Lorena.¹

¹ Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² Hospital Provincial del Centenario de Rosario.

INTRODUCCIÓN: en el Laboratorio asistencial del área de Toxicología de la Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas con asiento en el Hospital Provincial del Centenario de Rosario, se procesan las muestras provenientes de los distintos servicios del hospital, ya sea de guardia, internación y laboratorio central, como así también del servicio de nefrología, gastroenterología, cardiología, hematología y las extracciones realizadas en el SIEBE sala 9. También se reciben muestras provenientes de efectores externos tales como CEMAR, Hospital Provincial de Rosario y otros pertenecientes a la red bioquímica provincial.

METODOLOGÍA: evaluación retrospectiva de las determinaciones de inmunosupresores que ingresaron al servicio de toxicología desde el 1 al 31 de marzo de 2024. Las muestras se analizaron en el equipo Architect I1000. Se analizó la prevalencia según el sexo y la edad de los pacientes.

RESULTADOS: en el período analizado se procesaron 80 determinaciones de inmunosupresores, de las cuales 60 corresponden al Tacrolimus, representando el 75 % de los pacientes. De estas muestras 55% corresponden al sexo masculino y respecto a la edad de los pacientes la mayoría corresponde al rango etario de 30 a 50 años (55%), seguido por el rango de 50 a 70 años (32%)



CONCLUSIONES: según los resultados analizados, el Tacrolimus es el inmunosupresor más utilizado, coincidiendo con lo planteado por la bibliografía. A su vez, no existen diferencias significativas en cuanto al uso de inmunosupresores según el género. Mientras que si existen diferencias significativas respecto al rango etario, siendo predominante el uso de los mismos en pacientes entre los 30 y los 50 años de edad.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29344>

Monografía



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

PRÁCTICA PROFESIONAL BIOQUÍMICA

2024

Monitorización de inmunosupresores:

Tacrolimus

Autora: Majluff Dolores

Tutora: Micucci María Lorena

Docentes y coformadores: Gandara Betiana; Micucci María Lorena y Crescimbeni Jorgelina

Institución de rotación: Hospital Provincial del Centenario, SIEBE

Presentación

El monitoreo terapéutico de drogas consiste en la cuantificación de las concentraciones de medicamentos en la sangre, la interpretación farmacológica y las directrices de tratamiento. (López Jaramillo, 2020).

Las drogas terapéuticas que se monitorizan en el Laboratorio asistencial del área de Toxicología de la Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas (FBIOyF) con asiento en el Hospital Provincial del Centenario de Rosario son: anticonvulsivantes, inmunosupresores, paracetamol y antipsicóticos (litio).

En el Laboratorio asistencial de toxicología se procesan las muestras provenientes de los distintos servicios del hospital, ya sea de guardia, internación y laboratorio central, como así también del servicio de nefrología, servicio de gastroenterología, de cardiología, hematología y las extracciones realizadas en el SIEBE sala 9. Se reciben muestras provenientes de efectores externos tales como CEMAR, Hospital Provincial de Rosario y otros pertenecientes a la red bioquímica provincial.

En este trabajo se explica para qué se utiliza el Tacrolimus, por qué es necesario su monitoreo continuo y se presentan datos estadísticos del trabajo realizado durante el mes de rotación por el servicio de toxicología.

Marco teórico

En cuanto a los inmunosupresores, estos se utilizan en distintas patologías, principalmente en el tratamiento de pacientes a los que se les ha realizado un trasplante de órgano, porque son capaces de controlar la respuesta inmunitaria desencadenada por el huésped debido a la presencia de antígenos ajenos al propio organismo, evitando así el rechazo del órgano trasplantado. También se utilizan para evitar la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), que es la complicación más frecuente y potencialmente fatal cuando se realiza un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. En esta enfermedad los linfocitos T inmunocompetentes y procedentes del donante (injerto) reconocen estructuras antigénicas del receptor como extrañas. De esta manera, la respuesta

inmune resultante activa los linfocitos T del donante y destruye los tejidos del receptor. La EICH aguda es la principal complicación fatal en la fase precoz del trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, mientras que la EICH crónica supone una alta morbilidad y mala calidad de vida de los pacientes que sobreviven a largo plazo. (Moreno, 2019).

La monitorización permanente de la droga sirve para controlar que la dosis indicada por el médico se encuentre dentro del rango terapéutico evitando complicaciones por toxicidad del fármaco. La utilidad de determinar las concentraciones sanguíneas de los inmunosupresores se basa en que su efecto depende de las concentraciones alcanzadas en su lugar de acción, y estas concentraciones intralinfocitarias dependen de las concentraciones del inmunosupresor en sangre. Los fármacos inmunosupresores tienen la característica de que poseen un estrecho rango terapéutico, por este motivo es crucial el monitoreo de manera periódica de los mismos para poder ajustar la dosis y de esta manera, evitar intoxicaciones debido a dosis elevadas o bien evitar que la dosis sea insuficiente como para no ejercer su efecto inmunosupresor en el organismo. A su vez, estos fármacos se monitorizan debido a que presentan una elevada variabilidad interindividual tanto farmacocinética como farmacodinámica. Para la mayoría de los fármacos cada paciente recibe una dosis inicial en función de variables como el peso y la edad y luego a través de la monitorización dicha dosis se va ajustando en caso de ser necesario. (Gómez Lagos, 2017).

Los inmunosupresores utilizados son: Tacrolimus, Sirolimus, Everolimus y Ciclosporina. Todos son usados para evitar el rechazo de trasplantes hepáticos y renales mientras que para evitar el rechazo de trasplantes de médula ósea, es más frecuente el uso de la Ciclosporina.

El Tacrolimus es el inmunosupresor más utilizado para evitar el rechazo de trasplantes. Se puede administrar por vía intravenosa o por vía oral. La absorción del mismo desde el tracto gastrointestinal es variable e irregular y en cuanto a su distribución, se une a proteínas, principalmente a la albúmina y a la glucoproteína ácida α -1, y presenta un alto grado de unión a los eritrocitos. El Tacrolimus se metaboliza en gran parte en el hígado y en los microsomas del intestino delgado utilizando las enzimas del citocromo P-450. Se han identificado 9 metabolitos de Tacrolimus diferentes. El mecanismo de acción del Tacrolimus

se lleva a cabo en el interior de los linfocitos y consiste en que se une a un grupo de proteínas, denominadas captadoras de FK506 (tacrolimus) (FKBP). La formación de un gran complejo pentamérico, que comprende FKBP, Tacrolimus, calmodulina y calcineurinas A y B, provoca la inhibición de la actividad fosfatasa de la calcineurina. Esto conlleva a que los factores de transcripción que requieren de la desfosforilación para el transporte al núcleo de la célula se vean inhibidos y se produzca un bloqueo de la proliferación y función de los linfocitos T. (Abbott Laboratories Diagnostics, 2015).

El uso de Tacrolimus se relaciona con efectos secundarios tóxicos graves, principalmente, nefrotoxicidad. En la actualidad, no está claro si la nefrotoxicidad de tacrolimus se debe al medicamento precursor, a los metabolitos o a la combinación de ambos. Otros efectos secundarios adversos comprenden neurotoxicidad, hipertensión, insomnio y náuseas. (Abbott Laboratories Diagnostics, 2015).

Para llevar a cabo la determinación de inmunosupresores Tacrolimus, Sirolimus y Ciclosporina se utiliza el equipo autoanalizador Architect i1000s de Abbott y para la determinación del inmunosupresor Everolimus se utiliza el equipo autoanalizador Cobas e411 de Roche.

En cuanto al procesamiento de las muestras para determinar inmunosupresores, se requiere de un pre-tratamiento manual de las mismas, con la finalidad de provocar la lisis de los glóbulos rojos de la muestra de sangre entera con EDTA, para que de esta manera se pueda dosar el fármaco que está tanto en el plasma como dentro de los glóbulos rojos.

El equipo utiliza el método competitivo basado en la reacción antígeno-anticuerpo con detección por quimioluminiscencia. Dicho método consiste en la competición del inmunosupresor de la muestra con un análogo del inmunosupresor conjugado con acridinio para unirse a un anticuerpo; de esta manera, cuanto mayor cantidad de inmunosupresor hay presente en la muestra menor desarrollo de quimioluminiscencia habrá y viceversa. Para que se de la reacción de quimioluminiscencia se requieren de dos soluciones, la solución pre-activadora o pretrigger y la solución activadora o trigger. La solución pretrigger, es una solución de peróxido de hidrógeno, que provee un medio ácido, para evitar la pérdida

prematura de luz y la aglutinación de las micropartículas, a su vez separa el colorante de acridinio del complejo micropartícula-conjugado, dejando así al acridinio libre para que luego pueda reaccionar con el peróxido de hidrogeno. Por otro lado, la solución activadora o también llamada trigger, es una solución de hidróxido de sodio, que provee el medio alcalino necesario para que se lleve a cabo la acción oxidativa del peróxido de hidrógeno sobre el acridinio para formar N-metilacridona que al volver a su estado original genera energía en forma de luz, provocando así la reacción quimioluminiscente. Existen tres protocolos distintos, el de un paso, el de dos pasos y el STAT.

1. Protocolo de un paso: la muestra, las micropartículas y el conjugado marcado con acridinio son colocados en la cubeta de reacción, luego se incuba 25 minutos y se lava para eliminar todo lo que no se ha unido. Posteriormente, la solución pre-activadora es dispensada y el fotómetro hace la lectura de fondo para luego adicionar la solución activadora ocasionando la reacción de quimioluminiscencia mientras el fotómetro realiza la lectura final. Finalmente, descarta la cubeta de reacción en el desecho sólido.
2. Protocolo de dos pasos: la muestra y las micropartículas se colocan en la cubeta de reacción y se incuba durante 18 minutos, luego se lava para eliminar el material que no se ha unido. Posteriormente, se adiciona el conjugado marcado con acridinio y se incuba durante 4 minutos para luego lavar y eliminar lo que no se ha unido. Luego, la solución pre-activadora es dispensada y el fotómetro hace la lectura de fondo para luego adicionar la solución activadora ocasionando la reacción de quimioluminiscencia mientras el fotómetro realiza la lectura final. Finalmente, descarta la cubeta de reacción en el desecho sólido.
3. Protocolo STAT: es aquel que se utiliza para casos de urgencia, se lleva a cabo en un solo paso, de igual manera que se describió anteriormente, pero con periodos de incubación acortados, para así obtener el resultado en un menor tiempo. (Abbott Laboratories Diagnostics, 2012).

De esta manera, en el protocolo de un paso se lleva a cabo un solo periodo de incubación (de 25 minutos) y un solo lavado, en el de dos pasos, se llevan a cabo dos

periodos de incubación (uno de 18 minutos y el siguiente de 4 minutos) y dos lavados y el protocolo STAT se lleva a cabo la metodología de un solo paso pero con un periodo de incubación de 11 minutos. Por lo que se puede concluir que el protocolo de un solo paso es de mayor duración que el de dos pasos, sin tener en cuenta el protocolo de urgencias.

En particular, para la determinación de inmunosupresores se utiliza el protocolo de un paso porque es el método de preferencia para moléculas pequeñas.

A su vez, junto con las muestras se procesan los controles, y el procesamiento de los mismos se realiza de igual manera que el las muestras, es decir que también reciben un pretratamiento y luego son introducidos en el equipo para la obtención de su valor. Una vez obtenido el resultado del control, se observa si se encuentra cerca de la media de la gráfica de Levey Jennings, lo cual es importante para poder validar los resultados de las muestras. En caso que el resultado obtenido del control, supere los ± 3 desvíos estándares se deberá volver a procesar el control y las muestras.

Una vez obtenidos los resultados mediante la utilización del equipo autoanalizador Architect de Abbott, estos se cargan en el sistema Infinity del Hospital Provincial del Centenario para que luego el médico tratante pueda ingresar al sistema, observar el resultado informado de la determinación realizada y tomar una decisión terapéutica en base al mismo.

Para este trabajo se realizó una evaluación de las determinaciones de inmunosupresores que ingresaron al servicio de toxicología durante el mes de marzo de 2024, período que coincidió con la rotación por el mismo. Además se analizó la prevalencia según el sexo y la edad de los pacientes.

Resultados

El Tacrolimus es el inmunosupresor más utilizado para evitar el rechazo de trasplantes. Esto coincide con lo evaluado durante el periodo del 1 de marzo del 2024 al 31 de marzo del 2024 durante la realización de la práctica profesional bioquímica obligatoria en Laboratorio asistencial del área Toxicología de la FBIOyF con asiento en el Hospital Provincial

del Centenario de Rosario. En este período se analizó la prevalencia de los distintos inmunosupresores, el sexo y la edad de los pacientes.

En el período analizado se procesaron 80 determinaciones de inmunosupresores, de las cuales 60 corresponden al Tacrolimus, representando el 75 % de los pacientes.

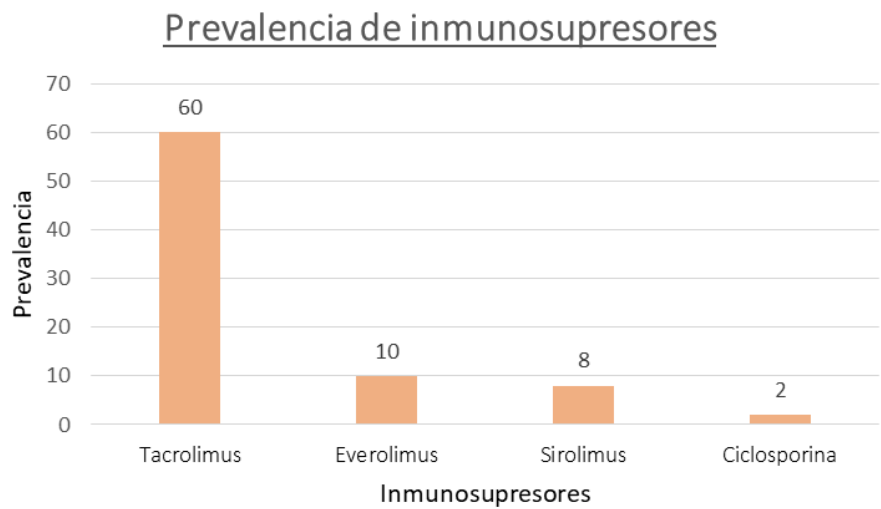


Gráfico 1: Prevalencia en la determinación o dosaje de inmunosupresores en el transcurso del 01/03/2024 al 31/03/2024.

En cuanto al género, de 80 determinaciones de inmunosupresores, 44 corresponden al sexo masculino (55%) y 36 al sexo femenino (45%).

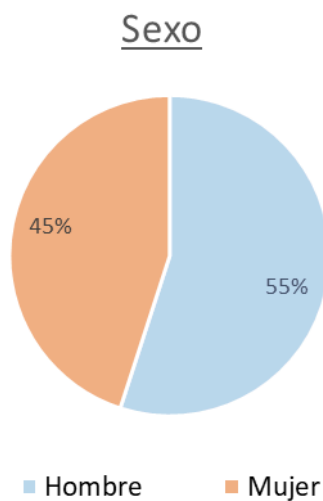


Gráfico 2: Género en el uso de inmunosupresores en el transcurso del 01/03/2024 al 31/03/2024.

Respecto al rango etario de dichos pacientes, se agrupó los rangos de la siguiente manera: pacientes con edad menor o igual 30 años, pacientes entre los 30 y los 50 años inclusive, pacientes entre los 50 y los 70 años inclusive y pacientes mayores a 70. Se observó que la mayor proporción de pacientes se encuentra en el rango de 30 a 70 años siendo predominante el grupo de 30 a 50 años.

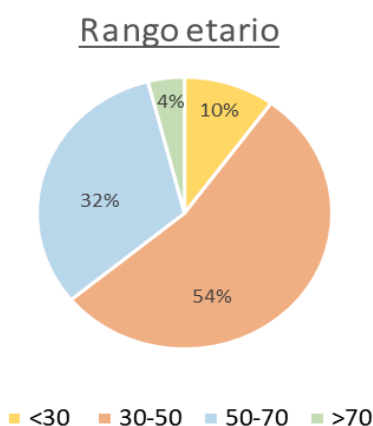


Gráfico 3: Rango etario en el uso de inmunosupresores en el transcurso del 01/03/2024 al 31/03/2024.

Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos respecto a la prevalencia del uso de inmunosupresores coinciden con la bibliografía, siendo el Tacrolimus el más utilizado. En el laboratorio de toxicología encontramos una prevalencia del 75% en el período analizado. A su vez, no existen diferencias significativas en cuanto al uso de inmunosupresores según el género. Mientras que si existen diferencias significativas respecto al rango etario, siendo predominante el uso de los mismos en pacientes entre los 30 a 50 años de edad.

Cabe aclarar que en el período analizado el número de muestras no fueron las habituales debido a los feriados y paros del personal del Hospital.

Es muy importante la realización del monitoreo de drogas terapéuticas para poder conocer la dosis adecuada que requiere cada paciente en particular, ya que la dosis de estas drogas es muy dependiente de cada individuo. A su vez, conocer dicha dosis permite que el paciente no presente una intoxicación causada por una dosis excesiva del fármaco, ni tampoco que se administre una dosis baja la cual no sea suficiente para que el inmunosupresor pueda llevar a cabo su efecto. También permite conocer si el paciente se ha adherido al tratamiento o es necesario reforzar las indicaciones que el médico da al paciente respecto a la medicación.

Para que el médico pueda tomar una decisión terapéutica, en cuanto a reducir, mantener o aumentar la dosis del inmunosupresor en cada paciente; es crucial poder brindar un resultado seguro y confiable, para ello es necesario que se lleven a cabo las etapas pre-analíticas, analíticas y post-analíticas de manera correcta.

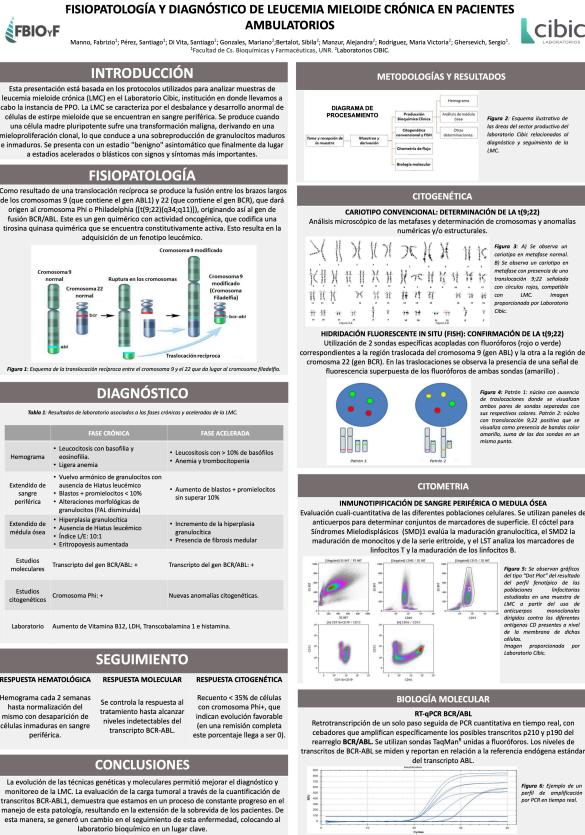
Perspectivas

Como propuesta de mejora para el Laboratorio asistencial del área de Toxicología de la FBIOyF se propone incrementar la relación interdisciplinaria del equipo bioquímico con los médicos del servicio de Nefrología del Hospital Provincial del Centenario que solicitan el dosaje del inmunosupresor en sangre, para que de esta manera se pueda profundizar en la historia clínica de cada paciente para llevar a cabo una mejor evaluación respecto al uso del inmunosupresor.

También se propone que el bioquímico que va a llevar a cabo el procesamiento de la muestra sea el mismo el que realice la extracción para poder tener más información respecto del paciente y la toma de medicación (dosis y horario) para que de esta manera el bioquímico pueda realizar una mejor interpretación de los resultados y posterior validación los mismos. No obstante, hay que tener en cuenta la cantidad de muestras a procesar y por lo tanto no siempre es factible que el mismo bioquímico lleve a cabo la extracción.

Bibliografía

1. Abbott Laboratories Diagnostics. Inserto Architect Tacrolimus. Revisado en septiembre de 2015.
2. Abbott Laboratories Diagnostics. Guía Rápida de Usuario Architect i1000s. Versión 3 - diciembre 2012.
3. Gómez Lagos, René (2017). Recomendaciones para la cuantificación de inmunosupresores en el monitoreo de drogas terapéuticas. Documento técnico del Instituto de Salud Pública de Chile, enero de 2017.
<https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones%20para%20la%20cuantificaci%C3%B3n%20de%20inmunosupresores.pdf>
4. López-Jaramillo Carlos, Díaz-Zuluaga Ana M., Leon Jose, Schoretsanitis Georgios, Paulzen Michael, Unterecker Stefan, Schwar Markus, Conca Andreas, Zernig Gerald, Gründer Gerhard, Haen Ekkerhard, Baumann Pierre, Bergemann Niels, Willi Clement Hans, Domschke Katharina, Eckermann Gabriel, Egberts Karin, Gerlach Manfred, Greiner Christine, Havemann-Reinecke Ursula , Hiemke Christoph (2020). Guía de consenso de expertos para la monitorización terapéutica de drogas en neuropsicofarmacología. Revista de Psiquiatría Biológica, vol 27, septiembre-diciembre de 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.psiq.2020.07.003>
5. Moreno David F, Cid Joan (2019). Enfermedad del injerto contra el receptor. Revista de Medicina Clínica, vol. 152, enero de 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.07.012>





TRABAJO FINAL 2024
PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

Fisiopatología y diagnóstico de LMC en pacientes ambulatorios

Integrantes:

- Manno, Fabrizio
- Pérez, Santiago

Tutor:

- Ghersevich, Sergio

Instituto de rotación:

- Laboratorios CIBIC

PRESENTACIÓN

El presente trabajo final tratará sobre el proceso y recorrido de las muestras de pacientes ante la sospecha de un cuadro de leucemia mieloide crónica (LMC) y los diferentes estudios diagnósticos, desde el contacto con el laboratorio, el proceso pre-analítico, el analítico y el post-analítico. Esta presentación está basada en los protocolos utilizados por el Laboratorio CIBIC, institución en donde llevamos a cabo la instancia de PPO. CIBIC es un laboratorio bioquímico de la ciudad de Rosario enfocado en el diagnóstico bioquímico clínico y en el desarrollo y aplicación de distintas metodologías biotecnológicas. Está conformado por un equipo de trabajo de más de 300 personas, distribuidas en nueve Centros de Atención a Pacientes, en el Centro de Producción, Investigación y Desarrollo (CEPIDE) y en Centro de Almacenamiento y Logística.

MARCO TEÓRICO

La LMC es una enfermedad caracterizada por el desbalance y desarrollo anormal (clonal o maligno) de células de estirpe mieloide que se encuentran en sangre periférica. La enfermedad se produce cuando una célula madre pluripotente sufre una transformación maligna, derivando en una mieloproliferación clonal, lo que conduce a una sobreproducción llamativa de granulocitos maduros e inmaduros.

La LMC es asintomática en el estadio inicial, y su progresión es insidiosa. Se presenta con un estadio "benigno" asintomático (malestar general, anorexia, descenso de peso) que finalmente da lugar a estadios acelerados o blásticos con signos y síntomas más importantes, como esplenomegalia, palidez, propensión a hematomas y hemorragia, fiebre, linfadenopatías y alteraciones cutáneas. Alrededor del 85% de los pacientes con LMC se detectan en la fase crónica.

1. FISIOPATOLOGÍA DE LA LMC

Como resultado de una translocación recíproca se produce la fusión entre los brazos largos de los cromosomas 9 (que contiene el gen ABL1) y 22 (que contiene el gen BCR), que dará origen al **cromosoma Phi o Philadelphia** ([t(9;22)(q34;q11)]), originando así al gen de fusión BCR/ABL (Figura 1). Este es un gen quimérico con actividad oncogénica, que codifica una tirosina quinasa quimérica que se encuentra constitutivamente activa. Esto resulta en la desregulación de la proliferación celular, en la disminución de la adherencia de células transformadas al estroma de la médula ósea y en la supresión de la muerte celular programada (apoptosis) en las células leucémicas.

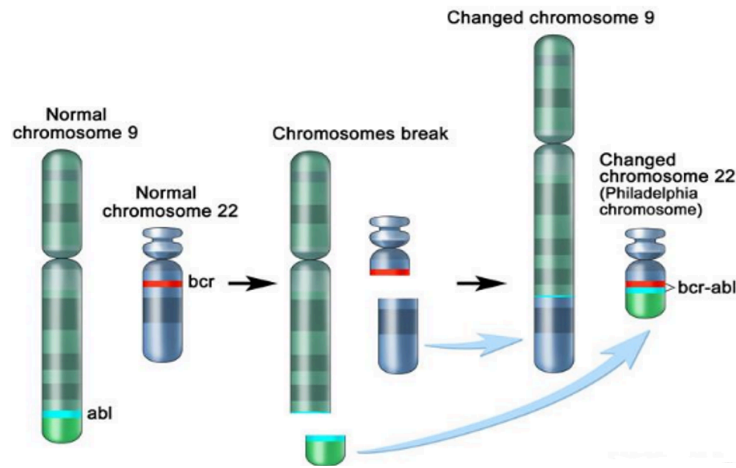


Figura 1: Esquema de la translocación recíproca entre el cromosoma 9 y el 22 que da lugar al cromosoma filadelfia.

Los puntos de ruptura que originan la translocación 9;22 se pueden situar en diferentes regiones bien definidas que pueden dar como resultado re-arreglos que generan proteínas quiméricas de diferentes pesos moleculares, tales como:

- **Proteína p210** (presente en casi la totalidad de casos de LMC)
- **Proteína p190** (presente en casos esporádicos de LMC),

2. PROGRESIÓN NATURAL DE LA LMC

La LMC aparece cuando una célula madre hematopoyética (HSC) transformada (por adquisición del cromosoma Phi) inicia una producción excesiva y clonal de todas las células del linaje mieloide, principalmente en médula ósea pero también en localizaciones extramedulares (por ej.: bazo o hígado). Aunque predomina la producción de granulocitos, el clon neoplásico incluye eritrocitos, megacariocitos, monocitos e incluso algunos linfocitos T y B. La alteración genética confiere una inestabilidad a las HSC frente a nuevas alteraciones genéticas que pueden, ocasionalmente, producir un bloqueo en la diferenciación celular, dando lugar a una proliferación de células inmaduras, evolucionando así hacia una leucemia de carácter aguda.

Las células madre normales quedan retenidas en la médula ósea y pueden emerger después de la supresión farmacológica del clon de leucemia mieloide crónica. Sin tratamiento, la LMC experimenta 3 fases:

- **Fase crónica:** un período poco activo inicial que puede durar 5-6 años. Fase donde se suele diagnosticar la LMC.
- **Fase acelerada:** fracaso terapéutico, empeoramiento de la anemia, trombocitopenia o trombocitosis progresiva, esplenomegalia persistente o que empeora, evolución

clonal, aumento de los basófilos de sangre, y aumento de los blastos en médula ósea o sangre (hasta 19%).

- **Fase blástica:** acumulación de blastos en sitios extramedulares (por ej.: en el hueso, el sistema nervioso central, los ganglios linfáticos y la piel). Los blastos en sangre o médula ósea aumentan hasta $\geq 20\%$ del recuento de células. Induce complicaciones fulminantes que se asemejan a las de la leucemia aguda, como sepsis y hemorragia. Algunos pacientes evolucionan directamente de la fase crónica a la blástica.

3. DIAGNÓSTICO DE LA LMC

En la mayoría de los casos el diagnóstico coincide con la fase crónica de la enfermedad, incluso muchas veces la LMC se puede diagnosticar en un examen de rutina ya que muchos pacientes son asintomáticos. Al tratarse de una patología que evoluciona desde su establecimiento, tendremos en cuenta los diferentes estadios y como los mismos se ven reflejados en parámetros del laboratorio (tabla 1).

	FASE CRÓNICA	FASE ACELERADA
HEMOGRAMA	● Leucocitosis importante. Basofilia y eosinofilia ● Ligera anemia	● Leucocitosis importante con $> 10\%$ de basófilos ● Anemia marcada ● Trombocitopenia marcada
EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA	● Vuelco armónico de granulocitos, ausencia de hiatus leucémico ● Blastos y promielocitos $< 10\%$ ● Alteraciones morfológicas de granulocitos (FAL disminuida)	● Aumento de blastos y promielocitos pero sin superar el 10%
EXTENDIDO DE MÉDULA ÓSEA	● Hiperplasia granulocítica ● Ausencia de hiatus leucémico ● Índice leucoeritroblástico 10:1 ● Eritropoyesis disminuida	● Incremento en la hiperplasia granulocítica ● Presencia de fibrosis medular
ESTUDIOS MOLECULARES	● Transcripto del gen BCR/ABL: +	● Transcripto del gen BCR/ABL: +
ESTUDIOS CITOGENÉTICOS	● Cromosoma Phi: +	● Nuevas anomalías citogenéticas
LABORATORIO	● Aumento de vitamina B12, LDH, Transcobalamina 1 e histamina	

Tabla 1: Resultados de laboratorio asociados a las fases crónicas y aceleradas de la LMC.

4. TRATAMIENTO

El tratamiento de la LMC depende del estadio de la enfermedad. En la fase crónica asintomática, los inhibidores de la tirosina quinasa (por ej.: Imatinib, Nilotinib, Dasatinib, etc.) constituyen la elección terapéutica inicial ya que inhiben la expresión del oncogén BCR-ABL; no son curativos, pero son extremadamente eficaces. Los inhibidores de la tirosina quinasa además, suelen utilizarse en la fase acelerada o explosiva. Algunos pacientes pueden ser capaces de permanecer en remisión luego de interrumpir los inhibidores de la tirosina quinasa. La perdurabilidad de estas remisiones todavía no se conoce. La respuesta del paciente a estos tratamientos se mide al inicio y luego a los 3 meses, 6 meses y 1 año. La respuesta puede evaluarse con una **prueba molecular** (medición del transcripto BCR-ABL por una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, qRT-PCR) o una **prueba citogenética** (presencia de cromosoma Ph+ o t(9,22)), pero ambas se recomiendan siempre que sea posible. Una respuesta molecular mayor se define como la expresión de BCR-ABL en sangre < 1/1000 del valor esperado para la LMC no tratada.

Debido a su relativamente baja toxicidad y a la eficacia de los inhibidores de la tirosina quinasa, el trasplante de células madre alogénicas se usa selectivamente. El trasplante está reservado para pacientes con LMC en fase acelerada o blástica resistente a los inhibidores de BCR-ABL. El trasplante puede ser curativo.

5. SEGUIMIENTO POST TRATAMIENTO DE LA LMC. Se evalúa:

- Respuesta hematológica: hemograma cada 2 semanas hasta que se alcanza una respuesta hematológica normal o normalización del mismo; observaría una disminución del conteo de glóbulos blancos y plaquetas con desaparición de células inmaduras en sangre periférica
- Respuesta citogenética: recuento < 35% de células con cromosoma Phi+, que indican evolución favorable (en una remisión completa este porcentaje llega a ser 0).
- Respuesta molecular: se controla la respuesta al tratamiento (como se mencionó anteriormente) hasta alcanzar niveles indetectables del transcripto BCR-ABL

6. PRONÓSTICO DE LA LMC

Con el uso de inhibidores de la tirosina quinasa, la supervivencia es > 90% a los 5 años después del diagnóstico para LMC en fase crónica. Antes de la implementación de dichos inhibidores, incluso con tratamiento, entre 5 al 10% de los pacientes tratados moría dentro de los 2 años posterior al diagnóstico, y de ahí en adelante, fallecía entre un 10 al 15% cada año. La edad media de supervivencia era de 4 a 7 años. La mayoría (90%) de las muertes

sobrevenían después de una fase blástica o de la fase acelerada de la enfermedad. La media de supervivencia después de una crisis blástica era de alrededor de 3 a 6 meses o más prolongada si se lograba la remisión.

RESULTADOS

Al no contar con un caso clínico puntual, en este punto se describe el protocolo del recorrido de muestras oncohematológicas que se reciben en el laboratorio CIBIC con diagnóstico presuntivo de LMC.

- 1) El primer contacto del paciente con el laboratorio se lleva a cabo a través del sector de **toma y recepción**, en donde se realizará la extracción de sangre para la posterior determinación de analitos solicitados por el médico en base a la sospecha diagnóstica. Una vez obtenida la muestra, ya sea mediante extracción de sangre o remisión de material de médula ósea a cargo del paciente, se acondicionará la muestra en cuestión para su posterior envío al centro de producción del laboratorio (CEPIDE).
- 2) A continuación, la muestra se distribuirá a las diferentes áreas productivas pasando como primer control a cargo del sector de **muestreo y derivación**. Allí, se recepciona un lote con todas las muestras enviadas, se controla el lote recibido y se procede a la distribución al respectivo sector productivo; también se dará ingreso al laboratorio a todas aquellas muestras que hayan sido remitidas como derivaciones de otros laboratorios.
- 3) Dentro de cada sector productivo el material biológico será analizado según las prestaciones requeridas, por lo tanto, el recorrido de cada muestra es único. De esta forma se abarcan los siguiente sectores y estudios correspondientes:

3.a) Producción bioquímica clínica

- Hemograma completo: se realizará mediante contador hematológico recuento de GR, GB, PQ, reticulocitos y demás parámetros hematológicos. A su vez, se alertará en caso de valores fuera de rango, así como alarmas predeterminadas ante la presencia de blastos, desvío a la izquierda, etc. En estos últimos casos, los bioquímicos a cargo del sector observaran un frotis de sangre periférica para corroborar las alertas.
- Determinación de analitos de utilidad diagnóstica: LDH, vitamina B12, transcobalamina 1 e histidina.

3.b) Citometría

- Inmunotipificación de sangre periférica o médula ósea de marcadores de superficie

Tipo de muestra y condiciones pre-analíticas: sangre periférica o médula ósea anticoagulada con EDTA. El paciente debe mantener al menos 4 horas de ayuno (en el caso de muestra de sangre periférica) y la muestra debe conservarse de 2-8°C y ser remitida al análisis lo antes posible. En caso de tratarse de una muestra de médula ósea, es considerada como URGENCIA dentro del laboratorio.

Principio y método de análisis: la citometría permite realizar una evaluación cuali-cuantitativa de las diferentes poblaciones celulares (mieloide, monocítica y eritroide), como así también en los precursores hematopoyéticos CD34+, detectando cambios fenotípicos en los patrones de maduración y diferenciación, pudiendo así definir la existencia de un desorden mieloide clonal. Se procederá al marcaje con kits de anticuerpos monoclonales SMD1, SMD2 y LST de la muestra en cuestión, para su posterior evaluación. El marcador **SMD1** evidencia la maduración granulocítica, el **SMD2** la maduración de monocitos y de la serie eritroide, y el **LST** analiza los marcadores de linfocitos T y la maduración de los linfocitos B.

Resultados esperados: surgen de la interpretación de los citogramas (FSC vs SSC) arrojados por los equipos de citometría.

Validación: constará de una doble aprobación, desde la vista técnica o analítica y desde la clínica.

- *Validación analítica:* mediante el software “Kaluza” se analizarán los citogramas, controlando la linfosuma de $CD3 = CD4 + CD8$ (diferencia no mayor al 10%, $CD3 + CD19 + NK = 100\%$ linfocitos).
- *Validación clínica:* se llevará a cabo mediante un análisis de los valores obtenidos en el equipo y en base al diagnóstico del paciente. Deberán coincidir ambos métodos de validación para que el resultado siga su curso.

3.c) Citogenética

- Determinación de cariotipo:

Tipo de muestra y condiciones pre-analíticas: sangre periférica o médula ósea anticoagulada con heparina. No requiere preparación previa y la muestra debe conservarse de 2-8°C y ser remitida al análisis lo antes posible.

Principio y método de análisis: siembra del material remitido en medio de cultivo RPMI e incubación con fitohemaglutinina (estimula la linfoproliferación) y timidina a 37°C durante 48-72hs. Luego se detiene la división celular en metafase (agregado de

colchicina). Se incuban las células en medio hipotónico. Luego se lavan, se fijan y se siembran sobre portaobjetos. Las metafases obtenidas son sometidas a un tratamiento con tripsina y se procede a realizar una tinción con colorante Wright para observar los patrones característicos de cada cromosoma en el microscopio. Se compara contra un estándar de una muestra normal (realizado por el mismo método). De esta manera el análisis microscópico de cada metafase permite identificar cada par cromosómico y detectar anomalías numéricas y/o estructurales (Figura 2).

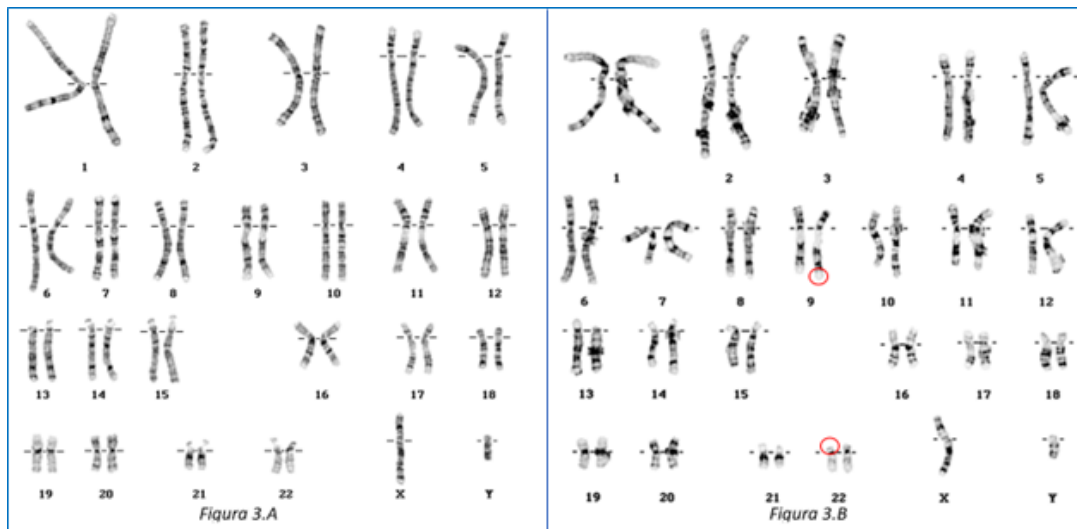


Figura 2: A) Se observa un cariotipo en metafase normal. B) Se observa un cariotipo en metafase con presencia de una translocación 9;22 señalada con círculos rojos, compatible con LMC. Imágenes proporcionadas por Laboratorio Cibic.

Resultados esperados: cada muestra será analizada en forma independiente por dos analistas, cada uno de los cuales analizará al menos 10 metafases. En caso de surgir discrepancias entre los analistas, se podrá seguir analizando hasta llegar a 30 o 50 metafases y luego la muestra será sometida a un análisis grupal por parte del sector para acordar el informe final. Se dejará constancia fotográfica de todas las muestras analizadas.

Validación: La validación constará de una doble aprobación, desde la vista técnica o analítica y desde la clínica.

Validación clínica: se cuenta además de la evaluación microscópica, con los datos personales del paciente, diagnóstico presuntivo, resumen de historia clínica, datos de análisis de laboratorio o información suministrada directamente por el derivante o médico especialista.

- Hibridación fluorescente *in situ* (FISH):

Tipo de muestra y condiciones pre-analíticas: mismas condiciones y muestras que las requeridas para la determinación del cariotipo. No hace falta realizar el cultivo.

Principio y método de análisis: la técnica de FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) permite el estudio de aberraciones genéticas tanto constitucionales como oncohematológicas que son demasiado pequeñas para ser visualizadas por estudios citogenéticos de rutina (cariotipos) y demasiado grandes para ser detectadas utilizando secuenciación estándar, por medio de la hibridación de sondas fluorescentes de ADN. En esta metodología, una vez obtenidos los cromosomas en metafase, se procede a una incubación de los mismos con sondas específicas acopladas con un fluoróforo para un determinado gen o una determinada región de los cromosomas.

Resultados esperados: En el caso del cromosoma Philadelphia, una sonda corresponde a la región traslocada del cromosoma 9 y la otra a la región del cromosoma 22 (genes BCR-ABL). Luego, se observa la presencia de una señal de fluorescencia superpuesta de los fluoróforos de ambas sondas (Figura 3). Además, como control e identificación de un determinado cromosoma se utilizan sondas adicionales que hibridan en el centrómero del cromosoma de interés.

Validación: Se llevará a cabo contando 300 núcleos celulares, en donde se realizará el recuento de marcadores fluorescentes, y según valor de corte (cut-off) del proveedor se determinará si el análisis es positivo o no.

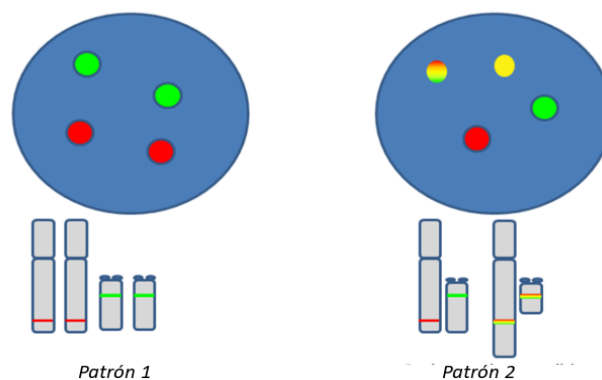


Figura 3: Esquema de los patrones de FISH en la identificación del cromosoma Filadelfia. La sonda roja detecta un gen sobre el cromosoma 22 y la sonda verde detecta otro gen sobre el cromosoma 9. Patrón 1: núcleo con ausencia de translocaciones donde se visualizan ambos pares de sondas separadas con sus respectivos colores. Patrón 2: núcleo con translocación 9;22 positiva que se visualiza como presencia de bandas color amarillo, suma de las dos sondas en un mismo punto.

3.d) Biología molecular

- RT-qPCR BCR/ABL:

Tipo de muestra y condiciones pre-analíticas: sangre periférica anticoagulada con EDTA o citrato de sodio - Médula ósea con EDTA o citrato de sodio. El anticoagulante heparina constituye una interferencia para el método ya que inhibe la Taq-Polimerasa. El paciente debe mantener al menos 4 horas de ayuno (en el caso de muestra de sangre periférica) y la muestra debe conservarse de 2-8°C y ser remitida al análisis lo antes posible, ya que, al tratarse de detección de ARNm, el tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el procesamiento son críticos.

Principio del análisis: consiste en una retrotranscripción de un solo paso seguida de PCR cuantitativa en tiempo real, donde ambas reacciones se llevan a cabo en el mismo tubo de reacción. La cuantificación se alcanza utilizando estándares de calibración internacionales con certificación ERM (European Reference Materials) de ADN plasmídico doble hebra y realizando un análisis de regresión lineal. Los cebadores amplifican específicamente los posibles transcritos p210 y p190. Se utilizan sondas TaqMan^R unidas a fluoróforos. Los niveles de transcritos de BCR-ABL se miden y reportan en relación a la referencia endógena estándar del transcripto ABL.

Resultados esperados: los resultados obtenidos para cada cuantificación absoluta de los transcritos BCR-ABL y ABL de las muestras incógnitas se los debe multiplicar por dos ya que el plásmido es doble hebra y el umbral de ciclo (Ct) resultante de la PCR está aportado por cada una de las hebras del mismo; mientras que las muestras incógnitas cuentan con una sola hebra que aporta al Ct. Los niveles de expresión relativa de las distintas muestras deben calcularse estandarizando la cantidad del transcrito BCR-ABL con la cantidad del gen constitutivo ABL. Para la cuantificación, se calcula la relación $(BCR-ABL)/[ABL \times 100]$, expresándose como porcentaje.

Validación: La validación constará de una doble aprobación, desde la vista técnica o analítica y desde la clínica.

- *Validación analítica:* con cada ensayo se adjuntan estándares que deben adquirir resultados dentro de rangos establecidos para que se pueda validar la linealidad del método y el correcto funcionamiento de la técnica. Además, serán rechazados aquellos resultados que por algún motivo (ej. interferencias) arrojen resultados de $ABL < 10.000$ copias.

- *Validación clínica:* para aquellas muestras detectables que no cuenten con antecedentes ni orden médica, se deberá corroborar que el paciente tenga un diagnóstico previo a la emisión del resultado.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El mejor conocimiento de la biología de la LMC permitió el desarrollo de tratamientos blanco-moleculares como los inhibidores de quinasas, logrando una ventaja significativa en la supervivencia de estos pacientes, dada la gran efectividad en la inactivación de la proteína oncogénica. La evolución de las técnicas genéticas y moleculares permitió mejorar el monitoreo de la LMC. La evaluación de la carga tumoral a través de la cuantificación de transcritos BCR-ABL1, demuestra que estamos en un proceso de constante progreso en el manejo de esta patología, resultando en la extensión de la supervivencia de los pacientes. De esta manera, se generó un cambio en el seguimiento de esta enfermedad, colocando al laboratorio bioquímico en un lugar clave.

PERSPECTIVAS

Tanto al momento de realizar un diagnóstico de LMC como al momento de seguir a un paciente con dicha anomalía, se recomienda realizar una interpretación minuciosa de todos los parámetros bioquímicos como así una correcta comunicación con el médico solicitante para llegar a un correcto diagnóstico o monitorización de la patología.

Al englobarse la LMC en un conjunto de patologías denominadas neoplasias mieloproliferativas es recomendable, al momento del diagnóstico y seguimiento, realizar un diagnóstico diferencial con el resto de patologías dentro de este grupo (policitemia vera, mielofibrosis primaria y trombocitemia esencial) y también con otras reacciones leucemoides reactivas no neoplásicas. Para ello, se pueden incluir a los estudios mencionados anteriormente, una serie de métodos moleculares para evidenciar la presencia de alguna anomalía genética que sea indicativa de estas otras patologías o de un avance de la LMC debido a la gran inestabilidad genética. Para este último caso se proponen las siguientes determinaciones:

- PCR exón 12 de JAK2.
- PCR de punto final de mutación JAK2 V61F.
- Calreticulina.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Emadi A, York Law J (2023) Leucemia mieloide crónica (LMC). En: Manual MSD versión para profesionales. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-ar/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/leucemias/leucemia-mieloide-cr%C3%B3nica-lmc>
2. Bain B, Bates I, Laffan MA (2018) Dacie y Lewis Hematología Práctica. 12ª Edición. Madrid: Elsevier España.
3. Sans-Sabrafen J, Besses Raebel C, Vives Corrons JL (2007). "Hematología Clínica". 5ª Edición. Madrid: Elsevier España.
4. Liesveld J, Lichtman M. Chapter 88: Chronic Myelogenous Leukemia and Related Disorders. En: Williams Hematology (10ª ed) Eds: Kaushansky K, Lichtman M, Prchal J, Levi M, Burns L (2021). New York: McGraw-Hill Education.
5. Ruiz Argüelles G, Ruiz Delgado G (2021). Fundamentos de Hematología. 6ª Edición. Editorial Médica Panamericana. México.
6. Material extraído de registros propios de Laboratorio Cibic (RG), mediante plataforma Enaxis.



El Laboratorio
Bioquímico del Dengue



Valenziano, Melisa ¹; Bressanelli, Natalia ²; Faciutto, Florencia ¹; Diviani, Romina ¹

¹ Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, 2 SILAB, Scapini Ingaramo Laboratorios

PRESENTACIÓN

El presente trabajo consta del abordaje de la enfermedad del dengue, una problemática de salud pública que muestra un aumento constante de casos en nuestro país año tras año. Se examinan los resultados de análisis bioquímicos de rutina realizados en el laboratorio SILAB a siete pacientes ambulatorios, de distintos géneros y edades comprendidas entre los 18 y 64 años, quienes concurren por sospecha de dengue tras la aparición de los síntomas de la subyacente infección al estar cursando los primeros días de la etapa febril. El propósito del estudio de esta información es demostrar cómo, desde nuestra profesión como bioquímicos, estos procedimientos simples pueden contribuir al diagnóstico del dengue.

MARCO TEÓRICO

El dengue es una enfermedad viral transmitida por la picadura de un mosquito del género *Aedes* infectado con el virus del dengue. En las Américas, el vector principal responsable de la transmisión es el *Aedes aegypti*.

SÍNTOMAS CLÁSICOS

Fiebre alta
(dolor de cabeza y que
dura de eructos/eructos)
Síntomas y vómitos
Sarpullido en la piel

SÍNTOMAS GRAVES

Petecie alta (de 2 a 7 días)
Dolor abdominal
Dolor de cabeza
Vómitos y vómitos
Móstraciones en la piel
Sangrado nasal y de encías
Sangrado interno (hemorragia)
Muerte



Esta enfermedad febril, afecta a lactantes, niños y adultos. La infección puede ser asintomática, o cursar con síntomas. La enfermedad puede evolucionar a dengue grave, caracterizado por shock, dificultad para respirar, sangrado grave y complicaciones graves de los órganos.

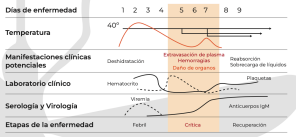
RESULTADOS

Análisis de Laboratorio	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Valores de referencia
Hematócrito (%)	39,9	41,9	41,4	34,5	43,9	38,8	40	35-50
Hemoglobina (g/dL)	13,3	14,3	14,2	12,8	14,7	13,3	14,3	11-16
Globulinas Rojas /mm ³	5.040.000	4.870.000	4.460.000	3.840.000	5.060.000	4.620.000	4.420.000	3.700.000-5.500.000
Globulinas Blancas/mm ³	2.190	1.370	3.880	1.800	1.950	3.020	2.200	2.000-9.000
% Ne	26	43	72	48	32	27	41	55-65
% L	57	41	15	39	55	57	49	25-35
Plaquetas /mm ³	88.000	113.000	116.000	121.000	86.000	73.000	113.000	150.000-400.000
DOT (U/L)	72	42	21	34	54	93	151	5-34
OPT (U/L)	62	18	17	25	39	41	111	1-55
Urea (mg/dL)	-	25	-	-	35	24	-	10-40
Creatinemia (mg/dL)	-	0,76	-	-	-	-	-	0,7-1,2
Antígeno NS1	-	-	positivo	positivo	positivo	positivo	-	-
Anticuerpo IgM	positivo	-	-	-	-	-	-	-
RT-PCR	-	positivo	-	-	-	-	-	-

Tabla 1. Resultados de laboratorio de los pacientes de SILAB.

AGRADECIMIENTOS: Al Laboratorio privado SILAB, por recibirnos para realizar mis prácticas y colaborar con información para la realización de este trabajo.

ETAPAS DE LA ENFERMEDAD



CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida con 7 días más días de evolución desde el inicio de la fiebre, se utilizará el método indirecto (IgM) y el método directo (NS1, PCR, aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 días de evolución desde el inicio de la fiebre, se utilizará el método indirecto (IgM) y el método directo (NS1, PCR, aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 7 a 9 días de evolución desde el inicio de la fiebre, se utilizará el método directo (NS1, PCR, aislamiento viral).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Según lo observado en los valores de laboratorio obtenidos de los casos sospechosos de dengue, que fueron confirmados con métodos específicos, los pacientes presentan una clínica compatible con la enfermedad que se acompaña de una leucopenia y trombocitopenia marcadas, sumado también a valores alterados de las transaminasas. Se puede concluir entonces, que estos análisis clínicos de rutina son de gran ayuda a la hora de evaluar un posible caso de dengue para poder orientar al diagnóstico, y diferenciarlo así, de otros Síndromes Febriles Agudos inespecíficos.

PERSPECTIVAS

Se puede mencionar la existencia de una vacuna contra el Dengue, la vacuna Qdenga que por tener virus vivo atenuado, está contraindicada en embarazadas o mujeres en periodo de lactancia, personas que utilizan medicamentos que afectan al sistema inmunológico. Aún continúa siendo sometida a estudios para establecer su efectividad según el rango etario y regiones endémicas. Sería importante poder contar con una vacuna efectiva, que tenga alcance a la mayor parte de la población y que ayude a disminuir la carga de los pacientes con dengue, y sobre todo de las que presentan dengue grave. Esta podría ser una buena herramienta para ayudar a reducir los gastos en salud pública destinados a esta problemática, y para aliviar la saturación del sistema de salud frente a la gran cantidad de pacientes que concurren actualmente por esta enfermedad.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29351>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

PRACTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

2024

“EL LABORATORIO BIOQUÍMICO DEL DENGUE”

Tutora

- Diviani Romina (UNR)

Coformadoras

- Bressanelli Natalia (SILAB)
- Facciuto Florencia (SILAB)

Alumna

- Valenziano Melisa

Institución asignada para las rotaciones: SILAB

PRESENTACIÓN:

El presente trabajo consta del abordaje de la enfermedad del dengue, una problemática de salud pública que muestra un aumento constante de casos en nuestro país año tras año. Esta virosis afecta a un número significativo de individuos, especialmente durante los meses de marzo y abril. Se examinan los resultados de análisis bioquímicos de rutina realizados en el laboratorio SILAB a siete pacientes ambulatorios, de distintos géneros y edades comprendidas entre los 18 y 64 años, quienes concurren por sospecha de dengue tras la aparición de los síntomas de la supuesta infección al estar cursando los primeros días de la etapa febril. El propósito del estudio de esta información es demostrar cómo, desde nuestra profesión como bioquímicos, estos procedimientos simples pueden contribuir al diagnóstico del dengue.

MARCO TEÓRICO:

El dengue es una enfermedad viral transmitida por la picadura de un mosquito del género *Aedes* infectado con el virus del dengue. En las Américas, el vector principal responsable de la transmisión del dengue y otros Arbovirus es el *Aedes aegypti*, especie ampliamente distribuida en todo el territorio.

El virus se clasifica en cuatro serotipos en función de sus diferencias antigénicas y genéticas: Dengue virus tipo 1 al tipo 4 (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV4).

Características de la enfermedad por DENV

El dengue es una enfermedad febril que afecta a lactantes, niños y adultos. La infección puede ser asintomática, o cursar con síntomas que van desde una fiebre moderada a una fiebre alta incapacitante, con dolor de cabeza intenso, dolor retro ocular, dolor muscular y en las articulaciones, y exantema. La enfermedad puede evolucionar a dengue grave, caracterizado por shock, dificultad para respirar, sangrado grave y/o complicaciones graves de los órganos.

No hay antivirales específicos aprobados para tratar el dengue.

Síntomas de infección con DENV: fiebre, acompañada de uno o más de los siguientes síntomas: dolor retro ocular, dolor de cabeza, dolores musculares y articulares, náuseas y

vómitos, fatiga o cansancio extremo, aparición de manchas en la piel y picazón, sangrado de nariz y encías.

Es importante recordar que la infección por un serotipo, seguida por otra infección con un serotipo diferente, aumenta el riesgo de una persona de padecer dengue grave. Los factores individuales de riesgo pueden determinar también la gravedad de la enfermedad e incluyen además de la infección previa, la edad (menores de 5 y mayores de 65 años), enfermedades crónicas (asma bronquial, inmunosupresión, diabetes) y personas gestantes.

Etapas de la enfermedad

a) Etapa febril

Es de duración variable, 4 a 7 días; es el período de viremia en el cual existe una alta posibilidad de transmisión de la enfermedad si la persona es picada por un mosquito vector.

Presentación clínica: además de fiebre puede existir dolor muscular y articular, cefalea, dolor retro-orbitario, astenia, exantema predominantemente máculo-papular con o sin prurito (50% de los casos), discreto dolor abdominal, náuseas, vómitos. En un porcentaje significativo de pacientes existe diarrea, en general pastosa y de baja frecuencia. En esta etapa es característica la postración vinculada a estos síntomas.

Exámenes complementarios etapa febril

Hemograma: en general se presenta con leucopenia con linfocitosis relativa y trombocitopenia. Es un examen indispensable en todos los casos.

Hepatograma: puede ocurrir un incremento de transaminasas.

Proteína C reactiva (PCR) no elevada o en valores bajos, el aumento muy marcado de la PCR orienta a un diagnóstico diferencial de infección bacteriana.

Una característica distintiva de esta infección, crucial en el manejo clínico, es que en el período durante el cual se produce la caída de la fiebre y hasta 48 horas después es el momento en que con mayor frecuencia los pacientes pueden presentar complicaciones, ya que la extravasación de plasma se hace más intensa y es capaz de conducir al shock por dengue.

El empeoramiento es precedido por uno o más signos clínicos de alarma: dolor abdominal intenso y sostenido, vómitos persistentes, derrame seroso (en peritoneo, pleura o pericardio), hipotensión postural o lipotimia, sangrado de mucosas, cambio en el estado mental del paciente: somnolencia o irritabilidad, hepatomegalia (> 2 cm), incremento brusco del hematocrito concomitante con rápida disminución del recuento de plaquetas (signo tardío).

Luego de la etapa aguda la mayoría de los pacientes mejorarán, mientras que algunos de ellos pasarán a una etapa crítica sintomática.

b) Etapa crítica: es donde se produce la extravasación de plasma que puede llevar al shock hipovolémico.

Presentación clínica: generalmente el shock es de rápida instalación y corta duración (horas), pudiendo llevar a la muerte del paciente en un lapso de 24 a 48 horas o a una recuperación rápida con la terapia apropiada.

Sin embargo, también puede ser prolongado o recurrente. En estos casos la hipoperfusión mantenida llevará a la disfunción multiorgánica, con acidosis metabólica y coagulación intravascular diseminada que puede determinar hemorragias graves o masivas que empeoren el shock.

Sin diagnóstico precoz y tratamiento óptimo esta etapa puede tener una alta mortalidad.

El aumento del hematocrito, según algunos expertos, no es un signo precoz, por lo que no debe esperarse para iniciar la reposición hidroelectrolítica.

Exámenes complementarios en la etapa crítica

El hematocrito y el recuento de plaquetas son los exámenes de laboratorio clínico indispensables. Debido a la extravasación de plasma el hematocrito sube; es un método confiable para el monitoreo de la fuga de plasma. Cociente hematocrito/hemoglobina: >3,5 indica extravasación.

El resto de los exámenes complementarios deben realizarse de acuerdo al cuadro clínico del paciente: coagulograma, proteínas totales, albúmina, ionograma, gasometría, urea, creatinina y transaminasas.

Los estudios por imágenes (radiografía de tórax, ecografía), son útiles para evaluar la presencia de líquido libre en la cavidad abdominal o en las serosas (pericardio, pleura), antes de que sean clínicamente evidentes.

Se debe vigilar la presión arterial diferencial de 20 mm Hg o menos, ya que constituye un indicador inicial de la evolución a shock junto con los signos de inestabilidad hemodinámica tales como taquicardia, frialdad y enlentecimiento del llenado capilar.

Las plaquetas pueden descender progresivamente desde la etapa febril, pero este descenso se hace más intenso en la etapa crítica. No se ha demostrado que, en el dengue, exista una estricta correlación entre la trombocitopenia y el sangrado. No obstante, esta disminución progresiva de las plaquetas constituye una indicación para un control repetido y estricto del paciente, porque puede ser un marcador de progresión de enfermedad. Cuando las plaquetas comienzan a elevarse, indican que el paciente ha iniciado su mejoría.

c) Etapa de recuperación: En la etapa de recuperación generalmente se hace evidente la mejoría del paciente pero, en ocasiones, existe un estado de sobrecarga de volumen, así como alguna infección bacteriana agregada. En esta etapa es importante vigilar sobre todo a aquellos pacientes que tengan dificultades en el manejo de los líquidos (insuficiencia renal crónica, insuficiencia cardíaca, pacientes ancianos).

Fisiopatología

Cuando el virus es introducido en la piel, la primera célula diana es la célula dendrítica presente en la epidermis, principalmente las células de Langerhans, que se activan y presentan el virus al linfocito T. De igual manera, los virus que invadieron la sangre son identificados por los monocitos y células endoteliales, que también cumplen la función presentadora. Los primeros linfocitos en activarse son los CD4 y posteriormente los CD8, con liberación de citoquinas. La respuesta inmunológica del huésped puede ser protectora (y conducir a la curación) o patogénica expresada por una “desregulación” que se caracteriza por una producción excesiva de citoquinas, así como cambio de la respuesta tipo TH1 a TH2 e inversión del índice CD4 / CD8. El derrame excesivo de citoquinas produce un aumento de la permeabilidad vascular que se traduce en una extravasación de plasma, que es la alteración fisiopatológica fundamental del dengue, mediante la cual se escapa agua y proteínas hacia el espacio extravascular y se produce la hemoconcentración y – a veces – shock hipovolémico.

La infección viral induce apoptosis de linfocitos T en los primeros días de la infección que de acuerdo a su intensidad puede influir favorablemente en la desaparición del virus o puede provocar la lisis de grandes cantidades de esas células y disminuir transitoriamente la competencia inmunológica del paciente, así como provocar daños en otras células y tejidos del huésped, tales como los endotelios, hepatocitos, miocardiocitos, neuronas, células tubulares renales, y otras, lo cual podría explicar la afectación de muchos órganos durante esta infección. La trombocitopenia se produce por destrucción de plaquetas en sangre periférica por un mecanismo inmuno-mediado. Los sangramientos durante el dengue no están en relación directa con la intensidad de la trombocitopenia, pues se producen por un conjunto de factores. Las causas de los sangramientos en el dengue son múltiples incluidas las vasculares y algunas alteraciones de la coagulación por acción cruzada de algunos anticuerpos antivirales contra el plasminógeno y otras proteínas, así como un desbalance entre los mecanismos de la coagulación y los de la fibrinólisis.

Diagnóstico específico

El diagnóstico por laboratorio de una infección por dengue puede realizarse por métodos directos (detección de antígeno NS1, detección de genoma viral por técnicas moleculares y/o aislamiento viral) y métodos indirectos (detección de anticuerpos IgM y/ IgG) dependiendo de los días de evolución del cuadro clínico que tiene el paciente al momento de presentarse a la consulta. Es importante conocer el día 1 del inicio de los síntomas, determinado principalmente por la aparición de fiebre, a la hora de realizar la toma de muestra.

Criterios de selección del método diagnóstico

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral). Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral). Si la muestra es obtenida con 7 o MÁS DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM/IgG, Neutralización con Panel de Flavivirus).

RESULTADOS:

Análisis de Laboratorio	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Valores de referencia
Hematocrito (%)	39,9	41,9	41,4	34,5	43,9	38,8	40	35-50
Hemoglobina (g/dL)	13,3	14,3	14,2	12,8	14,7	13,3	14,3	11-16
Globulos Rojos /mm ³	5.040.000	4.870.000	4.460.000	3.840.000	5.060.000	4.620.000	4.420.000	3.700.000-5.500.000
Globulos Blancos/mm ³	2.190	1.370	3.880	1.800	1.950	3.020	2.200	5.000-9.000
% Ns	26	43	72	48	32	27	41	55-65
% L	57	41	15	39	55	57	49	25-35
Plaquetas /mm ³	88.000	113.000	116.000	121.000	86.000	73.000	113.000	150.000-400.000
GOT (U/L)	72	42	21	34	54	93	151	5-34
GPT (U/L)	62	18	17	25	39	41	111	1-55
Uremia (mg/dL)	-	25	-	-	35	24	-	10-40
Creatininemia (mg/dL)	-	0,76	-	-	-	-	-	0,7-1,2
Antígeno NS1	-	-	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	-
Anticuerpo IgM	positivo	-	-	-	-	-	-	-
RT-PCR	-	positivo	-	-	-	-	-	-

Tabla 1. Resultados de laboratorio de los pacientes de SILAB.

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES:

El dengue en cuanto al laboratorio clínico, se caracteriza por producir leucopenia y plaquetopenia marcadas, que pueden ser observadas en los primeros días de evolución de la enfermedad acompañando al estado febril. Como se puede ver en la tabla 1, los siete pacientes en estudio presentan esta disminución característica de los glóbulos blancos con valores por debajo del límite inferior normal. A su vez esta leucopenia es acompañada por una linfocitosis relativa, propia de una infección viral en la cual desciende el porcentaje de neutrófilos segmentados y aumenta el de los linfocitos.

La trombocitopenia en esta enfermedad no es debida a un déficit de producción de trombocitos sino a la destrucción periférica, por un mecanismo inmunomediado (anticuerpos antivirales con reacción cruzada contra las plaquetas). Respecto a este parámetro, los pacientes analizados presentan un descenso moderado de plaquetas de carácter transitorio, que puede pronunciarse más en caso de que la enfermedad evolucione desfavorablemente hacia la etapa crítica o que puede mejorar de manera espontánea y paulatina, después de un breve período transcurrido el inicio de la enfermedad.

El virus dengue puede ocasionar injuria y elevación de enzimas hepáticas similar a como se observa en pacientes con hepatitis virales convencionales. Este daño hepático puede ser causado por acción directa del virus al atacar a distintas células y tejidos, como por ejemplo a los hepatocitos, o puede deberse a la activación de la respuesta inmune frente a este patógeno que induce un incremento en la producción de citoquinas con una concomitante respuesta inflamatoria. La hepatomegalia constituye un signo de alarma para el desarrollo de dengue grave. Habitualmente la enfermedad cursa con elevación de las enzimas hepáticas GOT (presente en hepatocitos y también en las células de los músculos y del corazón) y GPT (encontrada casi solamente dentro de las células del hígado), siendo la primera la más inespecífica y a su vez la que suele verse más aumentada en el dengue. Analizando los valores obtenidos de dichas enzimas en los pacientes en estudio, puede observarse que en cinco de ellos hay un incremento en la GOT, mientras que la GPT solo se ve elevada en dos de los mismos.

Otro parámetro importante de rutina es el hematocrito, el cual es necesario medir periódicamente en individuos que cursan con dengue para evaluar si se produce hemoconcentración por pérdida de plasma, más que nada en la etapa en la cual desciende la fiebre porque es donde pueden producirse las complicaciones de la enfermedad, llegando esta a su etapa crítica. El hematocrito en los sujetos estudiados tiene valores dentro de los rangos normales, ya que estos pacientes ambulatorios solamente pasaron por la etapa febril de la enfermedad evolucionando favorablemente una vez que mejoraron los síntomas.

Valores de hemoglobina, glóbulos rojos y parámetros como la uremia y la creatininemia que evalúan la función renal no se ven alterados.

Los distintos pacientes estudiados en este trabajo además de realizarse análisis de laboratorio básicos para evaluar el estado de salud en general, confirman estar cursando la enfermedad con métodos de diagnóstico específicos para dengue. Dentro de estas metodologías, seis de los siete pacientes presentan resultados positivos para métodos directos, basados en el aislamiento del virus o búsqueda del genoma viral (RNA), como son la RT-PCR y la detección del antígeno viral NS1 mediante test inmunocromatográfico; estos se utilizan dentro de los primeros días de evolución de la enfermedad desde el comienzo de la fiebre. Tan solo uno de los siete individuos analizados confirma la enfermedad mediante un método indirecto, que detecta los anticuerpos circulantes totales, IgG o IgM específicos. Esto puede deberse a que ya habían transcurrido más de siete días del inicio de los síntomas al momento de la toma de la muestra, por lo que se recurre a un método indirecto.

Según lo observado en los valores de laboratorio obtenidos de los casos sospechosos de dengue, que fueron confirmados con métodos específicos, los pacientes presentan una clínica compatible con la enfermedad que se acompaña de una leucopenia y trombocitopenia marcadas, sumado también a valores alterados de las transaminasas. Se puede concluir entonces, que estos análisis clínicos de rutina son de gran ayuda a la hora de evaluar un posible caso de dengue para poder orientar al diagnóstico, y diferenciarlo así, de otros Síndromes Febriles Agudos Inespecíficos.

PERSPECTIVAS

A modo de información adicional, se puede mencionar la existencia de una vacuna contra el dengue. La nueva vacuna Qdenga, comenzó recientemente a aplicarse en la Argentina para todas las personas mayores de cuatro años, hayan cursado o no previamente la enfermedad. Sin embargo, su uso solo se recomienda para el grupo de edad de 6 a 16 años en entornos de alta transmisión. Por tratarse de una vacuna a virus vivo atenuado, está contraindicada en: embarazadas o mujeres en período de lactancia, personas que utilizan medicamentos que afectan al sistema inmunitario (como corticoesteroides en dosis altas, quimioterapia), personas con un sistema inmunitario débil (puede deberse a un defecto genético o a una infección por el virus de la inmunodeficiencia humana – VIH).

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) aprobó la seguridad de la vacuna Qdenga en abril de 2023, pero la misma vacuna continúa siendo sometida a estudios para establecer su efectividad según el rango etario y regiones endémicas. El objetivo es recolectar la evidencia suficiente, junto a la Comisión Nacional de Inmunizaciones y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), que permita determinar un programa de inmunización focalizada y por rango etario, que sea seguro y efectivo.

Dado que se ha incrementado progresivamente el número de casos de dengue con el correr de los años, y que esta enfermedad ya no sólo se limita a la época veraniega donde se alcanzan las temperaturas mas elevadas sino que, la aparición de casos persiste incluso en los meses más fríos, sería importante poder contar con una vacuna efectiva, que tenga alcance a la mayor parte de la población y que ayude a disminuir la cantidad de pacientes con dengue, y sobre todo de los que presentan dengue grave. Esta podría ser una buena herramienta para ayudar a reducir los gastos en salud pública destinados a esta problemática, y para alivianar la saturación del sistema de salud frente a la gran cantidad de pacientes que concurren actualmente por esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

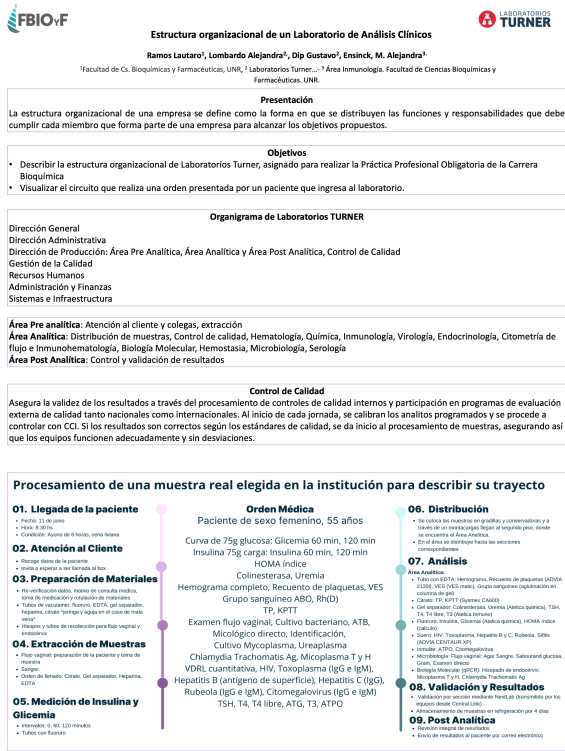
- Comisión directiva de la Sociedad Argentina de Virología (SAV), división de la Asociación Argentina de Microbiología. (2023). Breve actualización sobre Dengue 2023.
https://panel.aam.org.ar/img_up/03052023.1.pdf
- Victoria Frantchez, Richard Fornelli, Graciela Pérez Sartori, Zaida Arteta, Susana Cabrera, Leonardo Sosa, Julio Medina. (2016). Dengue en adultos: diagnóstico, tratamiento y abordaje de situaciones especiales.
http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902016000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Martínez Torres, E. (2008). Dengue. Estudos Avançados, 22(64), 33-52.
<https://www.revistas.usp.br/eav/article/view/10347>
- Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación. (diciembre 2015). Enfermedades infecciosas, dengue. Guía para el equipo de salud Nro. 2 (4ta. Edición).
<https://www.fundacionfemeba.org.ar/blog/farmacologia-7/post/diagnostico-de-dengue-guia-para-el-equipo-de-salud-2015-4ta-edicion-43177>
- Área de Vigilancia de la Salud - Dirección de Epidemiología. (2022). Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS2.0.
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/10/algoritmo_de_dengue_1842024.pdf
- Departamento de Medicina Preventiva y Laboral. (febrero 2024). Vacuna contra el Dengue.
<https://www.csjn.gov.ar/medprev/verMultimedia?data=8100>

Alumna: Ramos, Lautaro

Tutor Académico: Ensinck, María Alejandra

Lugar de realización: Laboratorios TURNER

Póster



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29352>

Trabajo Final de la Práctica Profesional Obligatoria

Carrera Bioquímica

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

Universidad Nacional de Rosario

Estructura organizacional de un Laboratorio de Análisis Clínicos

Alumno: Lautaro Ramos

Tutora: María Alejandra Ensinck

Institución de la rotación: Laboratorios Turner. Balcarce 622. Rosario.

Año 2024

Presentación

La estructura organizacional de una empresa se define como la forma en que se distribuyen las funciones y responsabilidades que debe cumplir cada miembro que forma parte de una empresa para alcanzar los objetivos propuestos.

Laboratorios TURNER es una unidad operativa para la realización de Análisis Clínicos de alta y baja complejidad que abarca tanto las determinaciones de pacientes ambulatorios, así como en muestras remitidas desde otros laboratorios.

El laboratorio se orientó, desde su fundación en 1964, hacia la endocrinología. Esta especialidad fue ejercida por sus fundadores, Diego Turner y Elda Arimany, desde el año 1953, siendo en esta línea el primer laboratorio del interior del país en desarrollar el radioinmunoensayo.

Esta relación temprana con la complejidad bioquímica, formó la conciencia de la Calidad, de la innovación y de la importancia de extremar las condiciones del ensayo, las cuales generaron conductas y criterios que impactaron en nuestra labor.

Con un alto grado de automatización y en el camino de la mejora continua, podemos sentir que ofrecemos nuestro laboratorio brindando un servicio con alta tecnología a cada uno de nuestros pacientes y colegas.

El objetivo es ofrecer un servicio ágil y eficiente, con un equipamiento de última generación, con personal de alta idoneidad, ejerciendo la bioquímica de manera que nos dé, no solamente la satisfacción de hacer lo que nos gusta, sino sobre todo el placer de brindar un servicio con alta calidad humana.

Objetivos

- Describir la estructura organizacional de Laboratorios Turner, asignado para realizar la Práctica Profesional Obligatoria de la Carrera Bioquímica
- Visualizar el circuito que realiza una orden presentada por un paciente que ingresa al laboratorio.

El organigrama de la institución está formado por:

- Dirección General
- Dirección Administrativa
- Dirección de Producción
- Gestión de la Calidad
- Recursos Humanos
- Administración y Finanzas
- Sistemas e infraestructura

A su vez, la Dirección de Producción está formada por 3 áreas:

- Área Pre Analítica
- Área Analítica
- Área Post Analítica

Área Preatalítica

Atención al Cliente es el primer punto de contacto para los pacientes en el establecimiento, así como el lugar donde se reciben muestras de otras sedes de Laboratorios Turner, y derivaciones de muestras de colegas.

Cuando un paciente llega al laboratorio, se presenta en Atención al Cliente. Si su visita es para realizarse análisis, en general, ya recibió previamente las indicaciones necesarias sobre ayuno o recolección de muestras para garantizar una toma óptima. En esta etapa, se registran sus datos y se le invita a esperar hasta ser llamado por su nombre al box, que se encuentra contiguo a la recepción.

Box de extracción

Los extraccionistas reciben la orden del paciente desde recepción, verifican el correcto ingreso de la orden y preparan los materiales necesarios para la extracción, tales como jeringas, agujas, hisopos, y tubos con los anticoagulantes requeridos. Se imprimen etiquetas con el código de barras, el nombre del paciente, el número de orden asignado por el laboratorio y el tipo de muestra, para clasificar correctamente cada recolector.

Cuando todo está listo, el paciente es llamado y se le corroboran nuevamente sus datos para evitar confusiones. Además, se le pregunta sobre su medicación actual, el motivo de la consulta médica, si ha cumplido con el ayuno correctamente, y si ha recolectado la muestra según las indicaciones recibidas. Tras la recolección de esta información, se procede a la toma de la muestra y/o a la recepción de la misma, en caso de que se trate de muestras como orina, material fecal, esputo, etc.

Plazo de entrega de resultados: el sistema establece un plazo de entrega de los resultados de los análisis por correo electrónico, conocido como "fecha de promesa". Este plazo se calcula basándose en el examen que requiera más tiempo para su procesamiento. Si el paciente necesita algunos resultados con mayor urgencia, estos pueden ser divididos y enviados tan pronto como estén listos.

Distribución

Una vez recolectadas las muestras, son llevadas a la sección de distribución junto con las derivaciones de colegas, donde se verifica nuevamente la información. Se colocan las orinas en conservadoras con refrigerantes, las muestras de microbiología en gradillas del sector y se distribuye el resto de las muestras según su clasificación en gradillas específicas para cada sección. En el caso de muestras urgentes, se notifica al Área Analítica pintando la tapa de las muestras de color negro, lo cual se aplica especialmente para pacientes oncológicos o aquellos que requieren resultados en un menor plazo.

Las gradillas y conservadoras se colocan en un montacargas y se envían al segundo piso, donde se encuentra el Área Analítica, completando así la cadena del Área Preanalítica.

Área Analítica

Una vez en el área de analítica las muestras se distribuyen a las secciones correspondientes. Si una muestra debe pasar por más de una sección, se sigue un orden preestablecido. Por ejemplo, en el caso de las muestras de suero o sangre con gel separador, el proceso comienza con las determinaciones completamente automatizadas y posteriormente se distribuye en las áreas no automatizadas. Antes de iniciar el análisis, tanto los bioquímicos como los técnicos revisan el

sistema Datatech para verificar si hay alguna consideración específica sobre el paciente que deban tener en cuenta.

Equipamiento

- ✓ **Analizadores Atellica® (Siemens)**, el laboratorio cuenta con 2 analizadores Atellica los cuales integran módulos analizadores de inmunoensayo y química clínica
- ✓ **ADVIA CENTAUR XP (Siemens)**, Sistema automático de inmunoensayo. Tecnología del ensayo: quimioluminiscencia directa
- ✓ **ADVIA 2120i (Siemens)**. Analizador de Hematología automatizado, con la capacidad de medir 31 parámetros. Principio de Medición: Rayo láser / Absorción de Luz.
- ✓ **Sysmex® CA600 (Siemens)**: autoanalizador de coagulación basados en reacciones colorimétricas.
- ✓ **VES MATIC**. Eritrosedimentación Automatizada. Método Westergren.
- ✓ **BN ProSpec® (Siemens)**. Utiliza tecnología nefelométrica para la determinación de proteínas plasmáticas.
- ✓ **Interlab G26**. El G26 es un sistema de electroforesis en gel de agarosa automatizado. Todas las fases de la electroforesis desde la aplicación de la muestra hasta la lectura del gel sin la intervención del operador.
- ✓ **Cliniteck Novus**: Analizador de orinas que combina la tecnología química de orina en almohadilla seca y un formato de prueba de cassette.
- ✓ **IRIS IQ 200 Select**. Autoanalizador de sedimentos urinarios. Genera tiempos de respuesta más breves con resultados estandarizados. Al aprovechar la tecnología patentada Digital Flow Morphology con el software Auto-Particle Recognition (APR), las partículas de la orina se aíslan, identifican y caracterizan en pantalla, para prácticamente suprimir la necesidad de microscopía manual
- ✓ **HPLC variant II Turbo II** Equipo para análisis de Hemoglobinas es un sistema completamente automatizado de Cromatografía Líquida de Alto Desempeño (HPLC) por intercambio iónico

- ✓ **Analizador de inmunofluorescencia Ipro.(BioSystems).** Automatización al proceso de inmunofluorescencia: para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes en un proceso totalmente estandarizado.
- ✓ **Sistema de inmunoensayo Inmulite (Siemens).** Sistema de inmunoensayo de acceso aleatorio con tecnología de inmunoensayo de quimioluminiscencia amplificada por enzimas (CLIA)
- ✓ **CHORUS TRIO.** Analizador multiparamétrico de prueba única, metodología ELISA automatizado, para ensayos autoinmunes e infecciosos.
- ✓ **BIOFLASH.** Analizador de quimioluminiscencia completamente automatizado y de acceso aleatorio para determinaciones de autoinmunidad.
- ✓ **BD FACSCanto II.** Citómetro de flujo para análisis celular en inmunología y hematología.

De forma no automatizada se procesan las muestras microbiológicas (bacteriología, micología, parasitología), algunas determinaciones de serología, espermogramas, orinas para recuento en cámara), toxicología (análisis de drogas en orina), inmunohematología (grupo sanguíneo, aloanticuerpos, autoanticuerpos)

Cada equipo, al finalizar su tarea, transmite desde Central Link los resultados al sistema de gestión NextLab. Una vez completada la cadena de análisis en cada sección, los bioquímicos a cargo validan los resultados a través de este sistema, teniendo en cuenta factores como el rango etario, sexo, raza y los antecedentes del paciente, para asegurar la coherencia con los resultados obtenidos recientemente.

Una vez completado el análisis, las muestras se conservan en cámaras de refrigeración durante un periodo de cuatro días. Esto se realiza con el objetivo de permitir la repetición del análisis en caso de ser necesario o para esperar posibles solicitudes adicionales de pruebas, por parte del paciente, que no habían sido previamente autorizadas por las obras sociales, denominadas agregados, que puedan surgir después del inicio del procesamiento.

Área PostAnalítica

Después de la validación del bioquímico a cargo de la sección, los resultados son verificados por el Área Postanalítica. En esta fase, se realiza una mirada integral de los resultados del paciente, considerando todas las secciones por las que paso. Esto se hace con el objetivo de realizar una validación definitiva y garantizar la precisión y fiabilidad de los datos.

Además de contar con un equipamiento avanzado, el laboratorio dispone de un algoritmo de trabajo que permite la autovalidación de ciertos resultados, agilizando el proceso y asegurando la calidad del análisis de manera eficiente.

Gestión de la Calidad

El área de Gestión de la Calidad tiene como objetivo de garantizar los estándares de calidad por nosotros establecidos y cumpliendo con los requisitos de la Norma ISO 9001:2015.

Política de la Calidad

Laboratorios TURNER establece su Política de la Calidad como medio para conducirse hacia la mejora continua de sus procesos estratégicos, centrales y de soporte, desarrollando su sistema de Gestión de la Calidad

Certificaciones

Laboratorios TURNER cuenta con certificaciones reconocidas y estándares de calidad que respaldan la calidad de servicio.

Control de Calidad

Desde el área Control de Calidad asegura la validez de los resultados a través del procesamiento de controles de calidad internos y participación en programas de evaluación externa de calidad tanto nacionales como internacionales.

Programas de Control de Calidad Externo

Participa en diversos programas de control de calidad externo, tanto a nivel nacional como internacional, que incluyen:

- ProgBA – CEMIC. Programa Internacional Buenos Aires de Aseguramiento Externo de Calidad en Análisis Clínicos – Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas.

- PEEC. Programa de Evaluación Externa de Calidad – Fundación Bioquímica Argentina (FBA).
- Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”.
- Control de Calidad Externo de Subpoblaciones Linfocitarias por Citometría de flujo – Grupo Rioplatense de Citometría de Flujo.
- Control de Calidad Externo para el diagnóstico serológico de Enfermedad de Chagas – INP Dr. Mario Fatale Chaben.
- Control de Calidad Externo para diagnóstico serológico de Sífilis – Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba.
- Control de Calidad Externo para ensayos serológicos de detección de AC antiHIV – Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba.
- CDC Newborn Screening.

Procesamiento de una muestra real elegida en la institución para describir su trayecto

Paciente de sexo femenino 53 años, ingresa al laboratorio el día 11 de junio a las 8:30 hs. con un ayuno previo de 8 horas y una cena liviana. Se presenta con Atención al cliente, quien toma sus datos y la invitan a esperar ser llamada por su nombre al box.

La orden medica de la paciente solicita las siguientes determinaciones:

- Curva de 75 gr sobrecarga glucosa. Glicemia 60 min. Glicemia 120 min.
- Insulina 75 g sobrecarga. Insulina 60 minutos. Insulina 120 minutos. HOMA índice
- Colinesterasa, Uremia
- Hemograma completo. Recuento de plaquetas. VES
- Grupo sanguíneo ABO, Rh(D)
- TP, KPTT
- Examen flujo vaginal.
- Cultivo bacteriano, ATB. Micológico directo. Identificación. Cultivo Mycoplasma, Ureaplasma
- Chlamydia Trachomatis Ag, Micoplasma T Y H

- VDRL cuantitativa, HIV, Toxoplasma (IgG e IgM), Hepatitis B (antígeno de superficie), Hepatitis C (IgG), Rubeola (IgG e IgM), Citomegalovirus (IgG e IgM)
- TSH- tirotrófina, T4, T4 libre, ATG, T3, ATPO.

Materiales necesarios:

Para la extracción de sangre, se emplearán tubos de vacutainer con diversos anticoagulantes:

- Tubos con fluoruro, EDTA, gel separador, heparina y citrato

Se utilizarán hisopos y tubos de recolección para obtener muestras de flujo vaginal y realizar hisopados de endocérvix.

Uno de los extraccionistas, toma su orden y de acuerdo a las determinaciones solicitadas, prepara los materiales, revisa que la orden de la paciente este bien cargada en sistema, imprime las etiquetas con el código de barra correspondiente y las coloca en los recolectores y llama a la paciente, que, una vez que se encuentra en el box es consultada por el ayuno, los medicamentos que está tomando y el motivo de consulta al médico. Además, se le consulta si su correo electrónico está correcto, debido a que es el único medio por donde va a recibir los resultados una vez finalizados, su número de teléfono, su nombre completo, etc.

Inicialmente, se le solicita a la paciente que se prepare para la toma de muestra de flujo vaginal e hisopado de endocérvix.

En segunda instancia, se procede a pedirle que descubra el brazo para la extracción de sangre. Se procede a la extracción siguiendo un orden preestablecido para el llenado de los tubos: primero con citrato, luego con gel separador, seguido por heparina y finalmente con EDTA. Una vez finalizada la recolección de muestras, se le aconseja a la paciente que presione firmemente el algodón en la zona de la punción durante unos minutos. Además, se le aconseja evitar hacer fuerza con ese brazo durante al menos dos horas.

Para esta paciente en particular, se requiere la medición de insulina y glicemia en intervalos de 0, 60 y 120 minutos. Por lo tanto, se le solicita permanecer en el laboratorio y, respetando estos tiempos, se toman las muestras en tubos con fluoruro como anticoagulante. Estas muestras son enviadas a distribución, y luego al Área Analítica.

Ya en el área analítica se distribuyen sus muestras, el tubo con EDTA va al contador hematológico donde se medirá hemograma completo y recuento de plaquetas. Luego va a VES matic donde se

mide la velocidad de eritrosedimentación. Finalizado este proceso, el tubo con la muestra pasa a la sección de inmunohematología, donde se investiga el grupo sanguíneo de la paciente, la metodología elegida es aglutinación en columna de gel, realizada mediante tarjetas comerciales. La muestra de citrato entra a CA600 con el objetivo de medir tiempo de protrombina y KPTT. La muestra con gel separador entra en Atelica, junto con las muestras con fluoruro y plasma con heparina. El suero entra en Atelica donde se va a procesar Colinesterasa, Uremia en el módulo de Química. En Atelica Inmuno va a procesar TSH- tirotrofina, T4, T4 libre, T3.

El plasma con heparina se utiliza con el objetivo del cálculo del índice HOMA, debido a que en el equipo se va a medir insulina y glicemia con dicho anticoagulante y luego se procede a hacer cálculos que miden la resistencia a insulina y la función de las células beta del páncreas.

La muestra con gel separador o suero aislado, al salir de Atelica, pasa por Centaur en donde se analizará HIV, Toxoplasma IgG e IgM, Hepatitis B antígeno de superficie, Rubeola IgG e IgM, Hepatitis C IgG, Sífilis, debido a que se pide como control pre quirúrgico.

Finalizado este estudio, entran en Inmulite donde analiza ATPO, Citomegalovirus IgG e IgM para que posteriormente esté disponible para hacer actividades no automáticas como la VDRL en la sección de Serología.

Los resultados se validan mediante NextLab y se guardan las muestras en cámara de refrigeración durante 4 días.

Mientras tanto, la muestra de flujo vaginal se va a la sección de Microbiología donde al flujo vaginal se lo va a sembrar en Agar Sangre, en placa de Sabourand glucosa, una coloración Gram en portaobjetos y un examen directo en fresco al microscopio.

El hisopado de endocervix va a la sección de Biología molecular donde se analiza Micoplasma T y H y Chlamydia Trachomatis Ag donde se analiza mediante la técnica de real time PCR.

Es importante mencionar que, al inicio de cada jornada en el Área analítica, hasta la llegada de las muestras a las 10:30hs., se realiza una calibración de los equipos mediante controles de los diferentes analitos. En base a los resultados obtenidos y siguiendo los estándares del programa de gestión de calidad, el equipo técnico y la sección de control toman decisiones para asegurar la calidad de los resultados. Estas decisiones pueden implicar el uso de calibradores específicos para cada analito. Las muestras solo se procesan una vez que los controles confirman que los equipos

están funcionando dentro de los rangos esperados, garantizando así que cualquier desviación en los valores obtenidos no sea debido a una influencia incorrecta de los equipos.

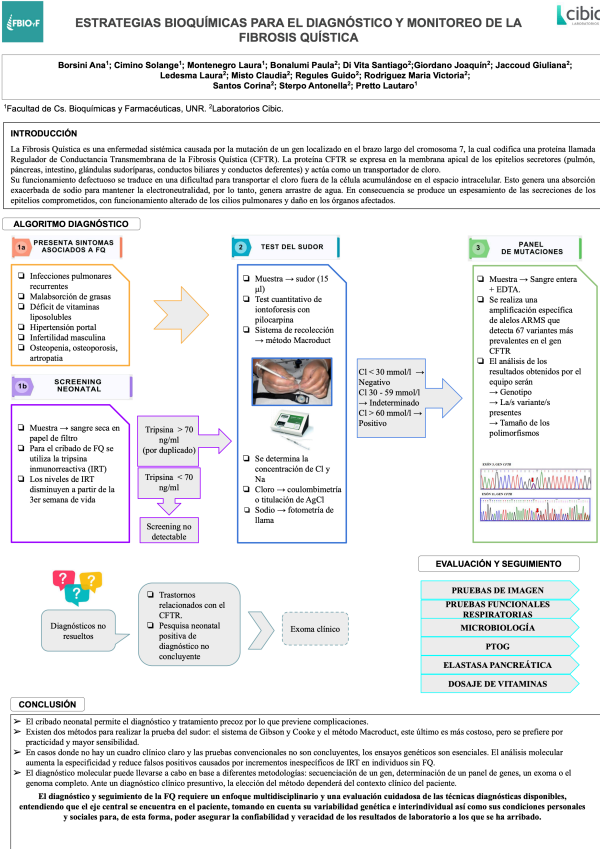
Una vez que ha pasado por todas las secciones, el área de Post Analítica realiza una mirada integral de los resultados. Los mismos se envían vía mail, destacando así la importancia del control de los datos personales que se llevan a cabo en toda el Área Pre analítica.

De este modo, los resultados se entregan al paciente con la seguridad de que todos los pasos del proceso han sido controlados, y permaneciendo atentos a cualquier comunicación del médico que solicitó los análisis para aclarar cualquier duda que pueda surgir.

Bibliografía

Laboratorios Turner (2024). Sección institucional. <https://laboratorioturner.com.ar/>

Póster



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29353>

Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

Práctica Profesional Obligatoria

Estrategias bioquímicas para el diagnóstico y monitoreo de la Fibrosis Quística

Autoras: Borsini, Ana; Cimino, Solange; Montenegro, Laura

Tutor: Pretto, Lautaro

Efectores: Laboratorios CIBIC

PRESENTACIÓN

El presente trabajo final surge de la experiencia generada a partir de las Prácticas Profesionales de la carrera de Bioquímica, en el marco de las rotaciones realizadas dentro de las distintas dependencias del laboratorio CIBIC. Desarrollaremos el rol del profesional bioquímico en el diagnóstico y seguimiento de la Fibrosis Quística (FQ), así como también el análisis de las posibles complicaciones que esta patología puede conllevar. Con este fin, tomaremos como guía central el algoritmo diagnóstico utilizado, con una marcada orientación hacia las técnicas utilizadas por el efector. De esta manera esperamos poder hacer una puesta en común de los conocimientos adquiridos en el transcurso del pasaje por las distintas áreas implicadas en la temática elegida.

MARCO TEÓRICO

La FQ es una enfermedad sistémica causada por la mutación de un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 7, la cual codifica una proteína llamada Regulador de Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística (CFTR). Presenta un patrón de herencia autosómica recesiva y su incidencia es de 1:3200 nacidos vivos. La proteína CFTR se expresa en la membrana apical de los epitelios secretores (pulmón, páncreas, intestino, glándulas sudoríparas, conductos biliares y conductos deferentes) y actúa como un transportador de cloro. Su funcionamiento defectuoso se traduce en una dificultad para transportar el cloro fuera de la célula acumulándose en el espacio intracelular. Esto genera una absorción exacerbada de sodio para mantener la electroneutralidad y, por lo tanto, arrastre de agua. En consecuencia se produce un espesamiento de las secreciones de los epitelios comprometidos, con funcionamiento alterado de los cilios pulmonares y daño en los órganos afectados.

En la actualidad se describen 6 clases de mutaciones del CFTR:

- 1- Defectos en la síntesis del CFTR: debido a mutaciones que resultan en la pérdida total o parcial de la producción de la proteína funcional, puede deberse a un codón de término prematuro, desplazamiento del marco de lectura, deleciones del gen CFTR.
- 2- Defectos en el procesamiento: se genera una proteína mal plegada y esto causa la retención en el retículo endoplásmico y la subsiguiente degradación.

- 3- Defectos en la regulación del canal: debido a mutaciones sin sentido, la proteína se produce, se inserta en la membrana pero es resistente a la activación y permanece cerrada.
- 4- Defectos en la conducción: debido a mutaciones sin sentido que disminuye la conductancia con la consecuente alteración en el transporte de iones.
- 5- Defecto parcial en la producción o en el procesamiento: debido a alteraciones en el empalme mRNA o cambios puntuales en la región promotora del gen, causando reducción en el número total de CFTR.
- 6- Disminución de la estabilidad proteica: ciertas mutaciones reducen la estabilidad del CFTR en la membrana plasmática, al aumentar su endocitosis o al reducir su retorno a la superficie celular.

Clínica

En relación a la clínica de los pacientes con FQ, dada su naturaleza sistémica, puede presentarse de las siguientes formas:

- Manifestaciones pulmonares: el funcionamiento deficiente de CFTR provoca la producción de secreciones espesas, deterioro del aclaramiento mucociliar, afectación de la viscosidad del moco y acidificación de las vías respiratorias. Todo esto resulta en inflamación e infecciones recurrentes y crónicas, con una pérdida progresiva de la función pulmonar. Desde los primeros meses de vida, algunos pacientes experimentan colonización e inflamación crónica endobronquial, siendo común inicialmente la presencia de *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*. Más adelante, en los casos de progresión y deterioro irreversible de la función pulmonar, es frecuente encontrar *Pseudomonas aeruginosa*. Además, se debe considerar el aumento de infecciones por bacterias menos comunes, como *Burkholderia cepacia* complex y *Stenotrophomonas maltophilia*, así como el aislamiento de especies fúngicas del género *Aspergillus spp.*, *Candida spp.* y micobacterias atípicas.
- Manifestaciones pancreáticas: afecta al 85% de los pacientes. Presentan insuficiencia exocrina que conlleva a la malabsorción de las grasas, déficit de vitaminas liposolubles (A,D,E,K) y dificultad para la ganancia ponderal. En un 50% de los pacientes adultos pueden desarrollar diabetes.

- Manifestaciones hepatobiliares: afecta al 30-50%, presentan principalmente fibrosis focal biliar, y un 10% hipertensión portal que ocurre en pacientes que progresan a cirrosis.
- Manifestaciones gastrointestinales: principalmente pólipos adenomatosos colorrectales que pueden progresar a cáncer colorrectal.
- Infertilidad: la esterilidad masculina afecta al 95%, se produce azoospermia secundaria a agenesia de conductos deferentes e hipoplasia de vesículas seminales, conductos eyaculadores y epidídimo.
- Manifestaciones óseas: presentan osteopenia, osteoporosis y artropatía.

En función de las manifestaciones clínicas se clasifica a los pacientes como:

- FQ típica o clásica: es la que se presenta con mayor frecuencia, caracterizada por enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia pancreática exocrina, elevación de cloro en sudor e infertilidad en varones por azoospermia obstructiva.
- FQ no clásica: el 15% de los pacientes diagnosticados presenta insuficiencia pancreática, en algunos casos con niveles normales de electrolitos en sudor y afectación pulmonar leve.

Evaluación y seguimiento

Los pacientes con FQ requieren un monitoreo multisistémico, ya que, como se describió anteriormente, la enfermedad puede afectar a más de un sistema u órgano al mismo tiempo, por ello se registrará la presencia de síntomas respiratorios pero además se evaluará la función hepática y pancreática.

- Pruebas de imagen: en niños pequeños o en las formas más leves de la enfermedad la radiografía de tórax puede ser normal, pero se aconseja realizarla en cuanto se diagnostica al paciente. De forma progresiva pueden ir apareciendo signos de atrapamiento aéreo, imágenes de consolidación (neumonía, atelectasia), bronquiectasias, lesiones quísticas y finalmente imágenes de fibrosis pulmonar.
- Pruebas funcionales respiratorias: evalúa la heterogeneidad en la distribución de la ventilación.

- Microbiología: es fundamental mantener una vigilancia microbiológica de la vía aérea, mediante cultivos de secreciones bronquiales. Se recomiendan cultivos mensuales en las formas severas de FQ y cada 3 meses en las formas más leves.
- Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG): para seguimiento de la diabetes mellitus relacionada a FQ, debe evaluarse su presencia con el test de tolerancia a la glucosa anualmente desde los 10 años.
- Elastasa: es frecuente la presencia de falla pancreática, la cual causa esteatorrea y, en consecuencia, malabsorción. Este cuadro se evalúa mediante el dosaje de elastasa en materia fecal, la disminución de la misma es un indicador de insuficiencia pancreática. Este ensayo se complementa con la prueba de Van De Kamer para diagnóstico de esteatorrea y el dosaje de vitaminas.
- Dosaje de vitaminas: monitorear el nivel plasmático de vitaminas anualmente, junto con los niveles de calcio, fósforo y hormona paratiroidea, y evaluar la densitometría ósea a partir de los 8 años, ya que la osteopatía con fracturas patológicas o deformidad de huesos puede presentarse con el avance de la enfermedad.

Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad se determina en base a la presencia de al menos una característica fenotípica compatible con FQ sumada a una prueba de laboratorio que refleje la disfunción de CFTR.

Se utiliza un algoritmo diagnóstico basado en la prueba de sudor y estudios de funcionalidad del canal de conductancia transmembrana de fibrosis quística de pacientes pediátricos que presenten una pesquisa neonatal positiva, síntomas y signos o historia familiar con fibrosis quística.

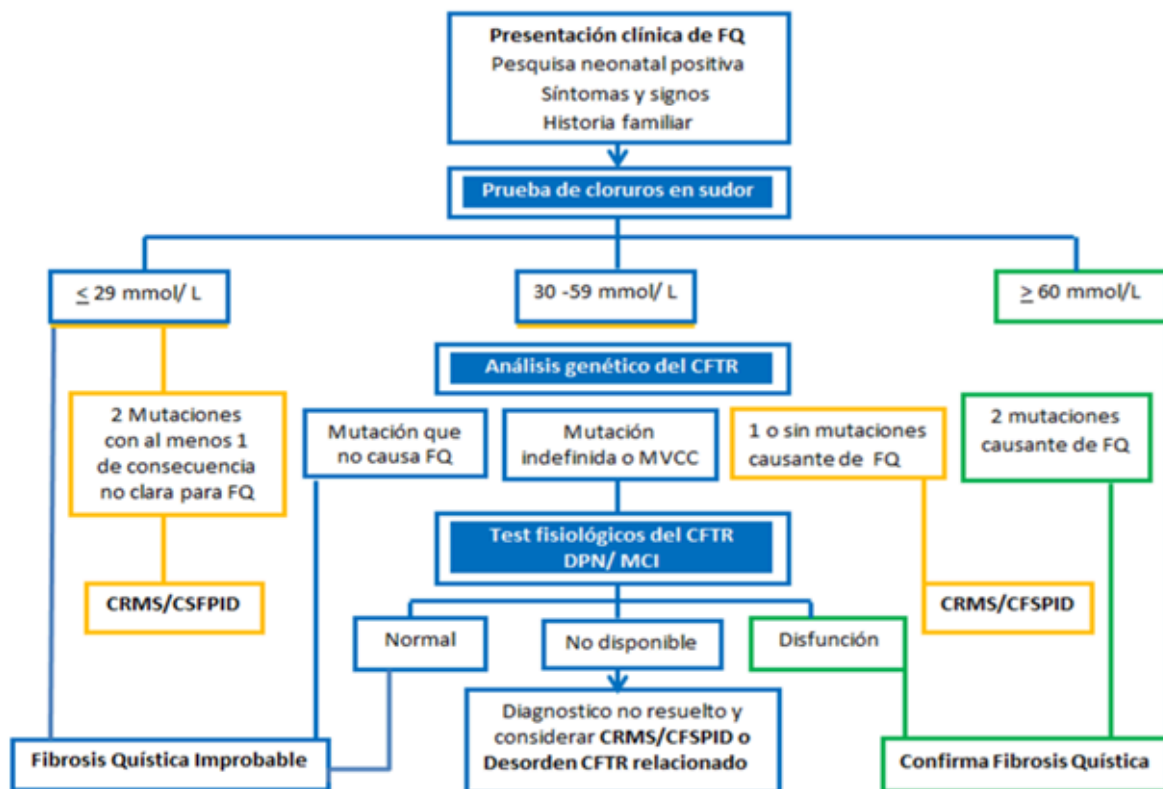


Figura 1: Algoritmo diagnóstico de FQ (modificado de Farrell y col., 2017)

FQ: fibrosis quística; MVCC: mutación de consecuencia clínica variable; DPN: diferencia de potencial nasal; MCI: medición de la corriente intestinal; CRMS: síndrome metabólico relacionado con CFTR; CFSPID: pesquisa neonatal positiva de diagnóstico no concluyente; CFTR: canal de conductancia de transmembrana de fibrosis quística.

En base al algoritmo planteado en la Figura 1 se describen las pruebas bioquímicas disponibles en el laboratorio CIBIC para el diagnóstico de FQ, las cuales se nombran a continuación:

1. Screening neonatal.
2. Test del sudor.
3. Identificación de mutaciones causantes de FQ.

- Screening neonatal

La Ley Nacional 26.279 (2007) de Pesquisa Neonatal establece que se practicarán las determinaciones para la detección de Fenilcetonuria, Galactosemia, Tripsina, hTSH,

Biotinidasa y 17 α -OH Progesterona, y posterior tratamiento de las patologías genéticas y/o congénitas.

Tipo de muestra: sangre seca en papel de filtro.

Condiciones pre-analíticas: la muestra se toma mediante punción del talón a niños recién nacidos entre las 48 horas y las primeras 3 semanas de vida, al menos 24 horas después del inicio de la alimentación láctea.

En lo concerniente al cribado de FQ el mejor marcador bioquímico aceptado internacionalmente es la tripsina Inmunorreactiva (IRT) que en la enfermedad se encuentra aumentada. Este aumento se debe a la obstrucción parcial o completa de canalículos pancreáticos que genera reflujo de esta enzima hacia la circulación sanguínea. La IRT comprende las distintas formas de tripsina que pueden hallarse en sangre: libre y unida a inhibidores.

Debe tenerse en cuenta que la concentración de IRT depende de la edad del recién nacido disminuyendo notablemente a partir de la tercera semana de vida.

Fundamento del método: las determinaciones se realizan por métodos fluorométricos (fenilalanina neonatal, galactosemia, biotinidasa), electroquímicos (TSH neonatal) y mediante la utilización del kit comercial D.E.L.F.I.A (Dissociation-Enhanced Lanthanide Fluorescent Immunoassay) neonatal (tripsina, 17-OH progesterona neonatal). Este último detecta fluorescencia a través de compuestos lantánidos. El ensayo se basa en un método sándwich de dos sitios donde anticuerpos monoclonales derivados de ratón se unen a diferentes determinantes antigénicos de la molécula de IRT.

En el caso en que el screening sea positivo, es decir que se obtengan valores de tripsina mayores a 70ng/ml, se realiza un duplicado con una nueva muestra. Si el resultado sigue encontrándose alterado el siguiente paso es llevar a cabo el test del sudor.

- Test del sudor

Tipo de muestra: sudor (volumen mínimo 15 μ L)

Condiciones pre-analíticas: La piel debe estar limpia, sana, sin procesos inflamatorios y/o infecciones.

Procedimiento: la prueba del sudor que se utiliza es el test cuantitativo de iontoforesis con pilocarpina, mediante el cual se estimula la sudoración colocando dos electrodos con

reactivo de pilocarpina y aplicando una corriente de 1.5 mA durante 5 minutos. Luego se recoge la muestra por dos técnicas: papel de filtro o gasa preprensados (sistema de Gibson y Cooke) o el método Macroduct, esta última es la técnica elegida por los laboratorios CIBIC por su practicidad y mayor sensibilidad.

El método Macroduct consta de una pulsera en cuyo interior posee un disco ligeramente cóncavo de plástico con un agujero en el centro y un tubo que desde este último se enrosca en espiral. Tiene además como indicador un colorante azul que permite comprobar que la cantidad de muestra recolectada es adecuada.

Consideraciones:

- El periodo de recolección no debe superar los 30 minutos, prolongar el tiempo para aumentar el volumen de la muestra puede generar falsos negativos.
- Si la cantidad de sudor obtenida es menor a 15 uL no se debe procesar la muestra.

La muestra se recoge con aguja y jeringa desde el tubo desenrollado que se extrajo del disco. Se determina concentración de cloro mediante coulombimetría o titulación de cloruro de plata. La concentración de sodio se puede analizar por fotómetro de llama.

Los resultados posibles de esta prueba son:

- Menor a 30 mmol/l → se considera un resultado normal.
- Entre 30 - 59 mmol/l → el resultado es indeterminado.
- Mayor a 60 mmol/l → resultado positivo.

Si el resultado es positivo se confirma repitiendo la determinación.

La información obtenida se debe cotejar con los síntomas y signos del paciente así como con su historia familiar. En todos los casos, se procede a determinar el panel de mutaciones del paciente, aun cuando el resultado del test del sudor sea negativo ya que la concentración de ion cloruro en sudor puede presentar variabilidad ante factores tales como la edad y el estado de hidratación del paciente.

- Diagnóstico molecular de FQ (Panel de mutaciones)

Tipo de muestra: Sangre entera con EDTA (volumen mínimo 1mL).

Condiciones pre-analíticas: ayuno de 4 Hs.

Fundamento del método: se realiza una amplificación específica de alelos ARMS(sistema de detección de variantes refractarias a la amplificación) que detecta 67 variantes más prevalentes en el gen CFTR (variantes puntuales, inserciones o deleciones).

Una vez finalizado el proceso el equipo nos mostrará el análisis completo:

- Genotipo obtenido: Wild type, Heterocigota mutado, Homocigota mutado, etc.
 - La/las variantes.
 - Tamaño de los polimorfismo.
 - Parámetros de calidad.
 - Exporte del informe.

Posibles resultados:

1. No se detectó ninguna de las variantes en estudio.
2. Se detecten la/las variantes VV1/VV2 en heterocigosis/homocigosis.

Por último se hace una interpretación de acuerdo al resultado obtenido:

- Presencia de 2 variantes patogénicas confirma el diagnóstico molecular de sospecha.
- No portador de variantes patogénicas en el gen CFTR que están incluidas en este panel. Los resultados deben ser evaluados según la clínica del paciente y en el caso de persistir sospecha clínica, se sugiere realizar secuenciación completa del gen CFTR.
- Portador homocigota de una variante patogénica en el gen CFTR, resultado compatible con la sospecha diagnóstica.
- Portador heterocigota de una variante patogenicia en el gen CFTR, y en el caso de persistir sospecha clínica, se sugiere realizar secuenciación completa del gen CFTR.
- Portador heterocigota de dos variantes patogénicas en el gen CFTR, resultado compatible con la sospecha diagnóstica.

Diagnósticos no resueltos

En algunos casos a pesar de que el paciente presente síntomas compatibles con FQ sus estudios diagnósticos no resultan concluyentes, estas alteraciones pueden presentarse como:

1. Trastornos relacionados con el CFTR

Es una entidad clínica, monosintomática (como ausencia bilateral congénita de vasos deferentes o pancreatitis o bronquiectasias) asociada a disfunción del CFRT.

2. Pesquisa neonatal positiva de diagnóstico no concluyente

Sucede cuando el recién nacido presenta una pesquisa neonatal positiva pero el resto de los estudios tienen resultado no concluyente. Estos pacientes se presentan como asintomáticos y las pruebas bioquímicas pueden arrojar los siguientes resultados:

- Cloruro en sudor debajo de 30 mmol/l y dos mutaciones de CFTR, al menos, una de las cuales tiene consecuencias fenotípicas poco claras para FQ.
- Cloruro en sudor entre 30 y 59 mmol/l, y una o ninguna mutación causante de FQ.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En base a lo desarrollado puede afirmarse que el cribado neonatal es una técnica fundamental para la detección temprana de FQ, permitiendo un diagnóstico y tratamiento precoz el cual puede prevenir complicaciones futuras. Así mismo, un segundo paso en el algoritmo diagnóstico es la prueba del sudor, como ya mencionamos existen dos métodos para llevar a cabo esta determinación: el sistema de Gibson y Cooke y el método Macroduct. Si comparamos ambas técnicas aunque el método Macroduct es más costoso, se prefiere por su practicidad en pacientes pediátricos y mayor sensibilidad.

Por otro lado, podemos destacar que las pruebas genéticas son esenciales para el diagnóstico, especialmente en casos donde no hay un cuadro clínico claro y las pruebas convencionales no son concluyentes. Frecuentemente, se realiza la determinación de la variante delta F508 debido a su alta prevalencia, teniendo en cuenta que un resultado negativo no excluye la presencia de FQ. El análisis molecular ofrece una ventaja significativa al aumentar la especificidad y reducir los falsos positivos causados por incrementos inespecíficos de IRT en individuos sin FQ.

En cuanto al diagnóstico molecular debe considerarse que el mismo puede llevarse a cabo en base a diferentes metodologías, entonces, ante un diagnóstico clínico presuntivo, surge la pregunta sobre qué secuenciar: ¿un gen, un panel de genes, un exoma o el genoma completo? Al respecto, debe tenerse en cuenta que, aunque secuenciar el genoma completo puede facilitar el diagnóstico, su elevado costo, complejidad y la posibilidad de hallazgos accidentales lo convierten en una última opción.

En resumen, el diagnóstico y seguimiento de la FQ requiere un enfoque multidisciplinario y una evaluación cuidadosa de las técnicas diagnósticas disponibles, entendiendo que el eje central se encuentra en el paciente, tomando en cuenta su variabilidad genética e interindividual así como sus condiciones personales y sociales para, de esta forma, poder asegurar la confiabilidad y veracidad de los resultados de laboratorio a los que se ha arribado.

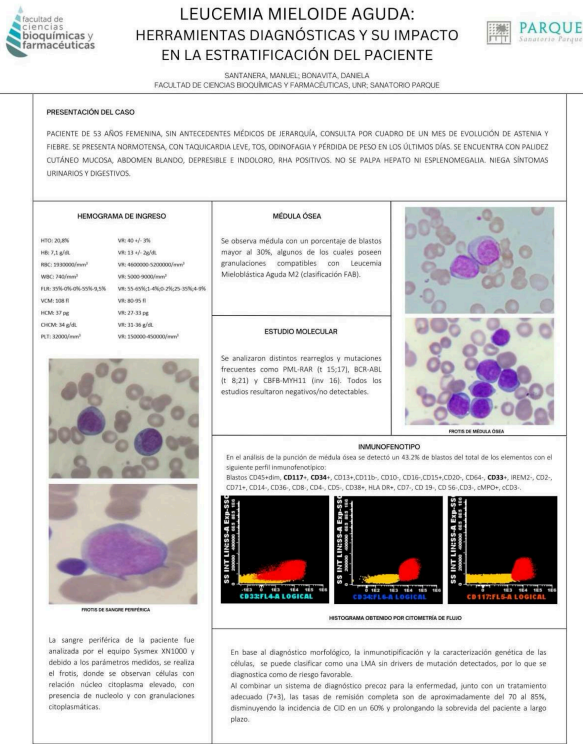
PERSPECTIVAS

Habiendo desarrollado las técnicas actuales para el diagnóstico de FQ, si bien las mismas suelen ser eficaces, se observa que en algunos casos a pesar de que el paciente presenta la sintomatología correspondiente, los estudios diagnósticos no llegan a un resultado concluyente. En consecuencia, los tiempos para comenzar un tratamiento eficaz se ven prolongados, lo que se traduce en un perjuicio directo hacia el paciente no pudiendo mejorar su calidad de vida. En este sentido, tecnologías novedosas tales como la secuenciación del exoma serían una opción para facilitar dicho diagnóstico.

El exoma es la parte del genoma formada por exones los cuales se transcriben para dar lugar a proteínas, su estudio resulta una estrategia eficiente para la identificación de mutaciones funcionales raras en comparación con las técnicas de secuenciación tradicionales ya que las mismas son laboriosas y requieren personal especializado. Además al tratarse de una enfermedad con alta heterogeneidad genética es necesario analizar un elevado número de secuencias en forma paralela, lo cual representa otra limitación para los métodos de secuenciación clásicos. En comparación, el análisis genético del exoma clínico mediante el uso de la tecnología de secuenciación masiva de nueva generación (NGS) permite secuenciar en forma simultánea un gran número de muestras de pacientes para múltiples genes, acortando significativamente los tiempos, disminuyendo los costos e incrementando la efectividad de los análisis realizados.

BIBLIOGRAFÍA

- Sociedad Argentina de Pediatría (2021). Guía de diagnóstico y tratamiento de pacientes con fibrosis quística. Actualización. (<https://acortarlink.cl/lg6y4>)
- Ley 26.279 - Régimen para la detección y posterior tratamiento de determinadas patologías en el recién nacido. InfoLEG (<https://acortarlink.cl/8peyd>)
- Asensio de la Cruz, O, Gartner, S, Mondéjar López, P, Grupo de Trabajo de Fibrosis Quística de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica (18 de diciembre de 2018). Protocolo de seguimiento de pacientes con fibrosis quística diagnosticados por cribado neonatal. Anales de Pediatría (10.1016/j.anpedi.2018.11.009)
- Arrudi Moreno, M, Martín de Vicente, C, García Romero, R, Samper Villagrasa, P, Sánchez Malo, M.J (9 de octubre de 2020). Cribado neonatal de fibrosis quística: análisis y diferencias de los niveles de tripsina inmunorreactiva en recién nacidos con cribado positivo. Anales de Pediatría (10.1016/j.anpedi.2020.04.029)
- Barrio Gómez de Agüero, M.I, García Hernández, G, Gartner, S y Grupo de Trabajo de Fibrosis Quística (29 de julio de 2009). Protocolo de diagnóstico y seguimiento de los pacientes con fibrosis quística. Anales de pediatría(10.1016/j.anpedi.2009.06.020)
- Andrade, A, Pizarro, M.E (22 de diciembre de 2021). Medicina de precisión en fibrosis quística. Revista Médica Clínica Las Condes, Vol.33. Núm.1 (10.1016/j.rmcl.2021.12.003)
- Diab Cáceres, L, Zamarrón de Lucas, E (10 de noviembre de 2023). Fibrosis quística: epidemiología, clínica, diagnóstico y tratamiento. Medicina Clínica, Vol.161 Núm.9 (<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2023.06.006>)
- Benítez Maestre, A.M (septiembre - octubre 2013). Test del sudor. Anales de Pediatría Continuada, Vol. 11. Núm. 5. (10.1016/S1696-2818(13)70150-1)
- Fernández, P, Melo, J (mayo 2015). Fibrosis quística en el adulto. Revista Médica Clínica Las Condes, Vol. 26. Núm. 3. (10.1016/j.rmcl.2015.06.004)
- Piñeros Fernández, M.C (28 de junio de 2023). Rendimiento del exoma para el diagnóstico temprano de las enfermedades raras genéticas en pacientes pediátricos. Revisión Narrativa (<https://doi.org/10.14295/rp.v56i2.230>)
- Fieldbaum, O (febrero 2017). Manejo actual de la fibrosis quística. Revista Clínica Médica Las Condes, Vol.28. Num 1. (10.1016/j.rmcl.2017.02.009)



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29354>



Leucemia Mieloide Aguda: Herramientas diagnósticas y su impacto en la estratificación del paciente.

Alumno: Manuel Santanera

Tutor: Bioq. Esp. Daniela Bonavita

Institución: Sanatorio Parque (Hematología)

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Paciente de 53 años de sexo femenino sin antecedentes médicos de jerarquía, consulta por cuadro de un mes de evolución de astenia y fiebre de 38.8 C. Se presenta normotensa, con taquicardia leve, tos, odinofagia y pérdida de peso en los últimos días. Se encuentra con palidez cutáneo mucosa, abdomen blando, depresible e indoloro, RHA positivos. No se palpa hepato ni esplenomegalia. Niega síntomas urinarios y digestivos.

Se le solicita estudios de laboratorio completo con coagulograma.

MARCO TEÓRICO

Las leucemias mieloblásticas agudas (LMA) son un grupo de trastornos hematológicos malignos, agresivos, de progresión rápida, fenotípica y genéticamente heterogéneos que han perdido la capacidad de diferenciarse normalmente. En este proceso está involucrada la activación de protooncogenes en oncogenes, junto con la pérdida o inhibición de genes supresores de tumores. Esto ocasiona un aumento de la proliferación celular, reducción de la apoptosis y el bloqueo de la diferenciación celular.

Todos estos eventos en conjunto causan la acumulación de células hematopoyéticas tempranas, blastos, inhibiendo la hematopoyesis normal.

La frecuencia de la enfermedad aumenta con la edad. Es la forma predominante de leucemia en el período neonatal (menores de un año) y adulto (25-60 años), con una pequeña proporción en adolescentes e infancia.

La etiología es desconocida, existiendo factores predisponentes como genéticos (síndrome de Down, anemia de Fanconi), no genéticos (exposición a radiaciones ionizantes, agentes quimioterápicos) o progresión de otros trastornos como neoplasias mieloproliferativas o síndromes mielodisplásicos.

Diagnóstico:

- **Manifestaciones clínicas:**

Clínicamente se presentan con anemia, sangrados por trombocitopenias y con predisposición a infecciones por la neutropenia. Esto es debido a la acumulación de células blásticas inmaduras en MO. Además poseen riesgo de infiltración tumoral, provocando dolores óseos, hipertrofia gingival, visceromegalias junto con un compromiso cutáneo y del SNC.

Cabe destacar las complicaciones de la LMA, como la CID debido al alto recambio celular, síndromes hiper leucocitarios como leucostasis (falla en la microcirculación) y síndrome de lisis tumoral, siendo este último una emergencia hematológica.

- **Hemograma:**

Presentan una marcada anemia (Hb entre 8-9 g/dl), trombocitopenia ($<50000/\text{mm}^3$ en la mayoría de los casos) y un recuento de glóbulos blancos variable. En SP se encuentra un hiatus leucémico.

- **Médula ósea:**

El aspirado de médula ósea debería mostrar blastos $>20\%$, a menos que se encuentre alguna anomalía citogenética o molecular recurrente, lo cual ya es diagnóstico de LMA.

- **Inmunofenotipo:**

El inmunofenotipo por CFM (citometría de flujo multiparamétrico) es fundamental para determinar las líneas involucradas en el clon leucémico e identificar patrones de expresión anómalos que luego serán útiles para cuantificar la enfermedad residuo medible (ERM).

- **Estudios moleculares:**

La caracterización genética es fundamental para el manejo de las LA proporcionando información para definir el tipo de LMA, categorizar el riesgo pronóstico, tomar decisiones terapéuticas, así como para el seguimiento y la evaluación de la respuesta al tratamiento. La siguiente figura muestra un algoritmo que permite la clasificación de las LMA basado en las recomendaciones de *European Leukemia Net* (ELN) del año 2022:

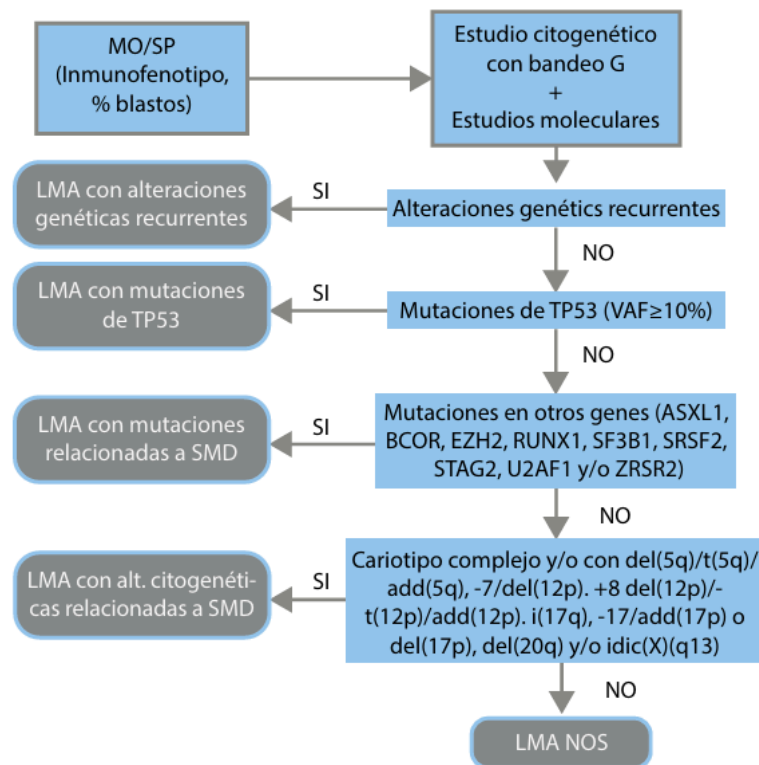


Imagen 1: Algoritmo para la clasificación de LMA por ELN.

Tratamiento:

El tratamiento de la LMA consiste en una fase de inducción para lograr la remisión de la enfermedad y otra de consolidación para erradicar la enfermedad residual que, dependiendo de las características del paciente y de la enfermedad, puede ser quimioterapia y/o trasplante alogénico.

La remisión completa se define como < 5% de células blásticas en la médula ósea, recuento absoluto de neutrófilos > 1000/mm³, recuento de plaquetas > 100.000/mm³ y la falta de necesidad de transfusión de sangre.

Las estrategias terapéuticas van a depender de las características del paciente (edad, patologías previas o uso de quimioterápicos), como también de las características citogenéticas, moleculares y de ERM.

En este caso, el tratamiento consiste en el esquema tradicional “7+3”, que incluye 7 días de infusión continua intravenosa de citarabina (Ara-C), más 3 días de una antraciclina. Con esto, se logra una tasa de remisión completa de 60-85% en menores de 60 años.

RESULTADOS

Laboratorio de ingreso a la guardia:

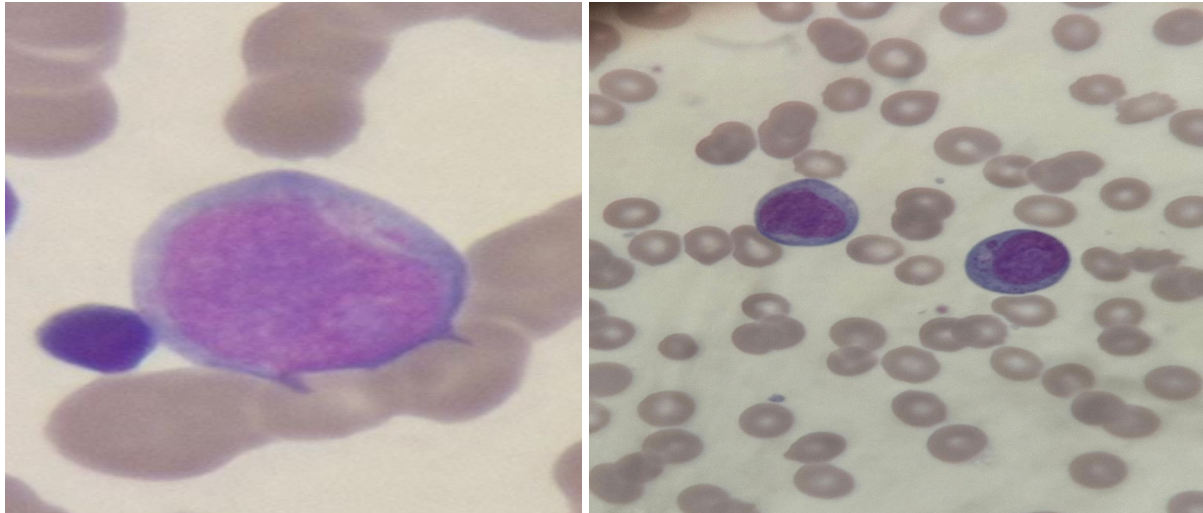
Hemograma:

- Hematocrito: 20,8% (VR: 40+/-3%).
- Hemoglobina: 7,1 g/dl (VR: 13 +/-2 g/dl).
- Hematíes: 1930000/mm3 (VR: 4600000-5200000/mm3).
- Leucocitos: 740/mm3 (VR: 5000-9000/mm3).
- Fórmula leucocitaria relativa: NS: 35,1%; Eo: 0%; Ba: 0%; L: 55,4%; Monocitos: 9,5%.
- VCM: 107.8 fl (VR: 80-95 fl).
- HCM: 36.8 pg (VR: 27-33 pg).
- CHCM: 34,1 g/dl (VR: 31-36 g/dl).



Imagen 2: Hemograma analizado por equipo Sysmex XN 1000.

La sangre periférica de la paciente fue analizada por un equipo Sysmex XN 1000 cuyo reporte puede evidenciarse las diferentes alarmas (flags) y debido a los parámetros medidos, se realiza frotis de sangre periférica donde se observan células relación núcleo citoplasma elevado, con presencia de nucleolo y con granulaciones citoplasmáticas por lo que se reporta al servicio de Hematología.



Imágen 3: Frotis de sangre periférica.

Coagulograma:

- Plaquetas: 32000/mm³ (VR: 150000-350000/mm³).
- Resto del coagulograma normal.

Otras determinaciones de laboratorio:

- Glicemia: 122 mg/dl (VR: 70-110 mg/dl).
- Creatinina: 0,63 mg/dl (VR: 0,5-1,0 mg/dl).
- Uremia: 19 mg/dl (VR: 20-45 mg/dl).
- Brr total: 0,70 mg/dl (VR: 0,20-1,20 mg/dl); Brr directa: 0,26 mg/dl (VR: 0,10-0,20 mg/dl); Brr indirecta: 0,44 mg/dl (VR: 0,10-1,0 mg/dl).
- Fosfatasa alcalina: 81 U/l (VR: hasta 105 UI/l).
- GOT: 13 UI/l (VR: hasta 31 UI/l).
- GPT: 13 UI/l (VR: hasta 32 UI/l).
- Amilasemia: 31 U/l (VR: hasta 120 U/l).
- Cloruro plasmático: 96 mEq/l (VR: 95-110 mEq/l).
- Potasemia: 3,55 mEq/l (VR: 3,20-5,50 mEq/l).
- Sodio en sangre: 132 mEq/l (VR: 135-145 mEq/l).

Estudios complementarios:

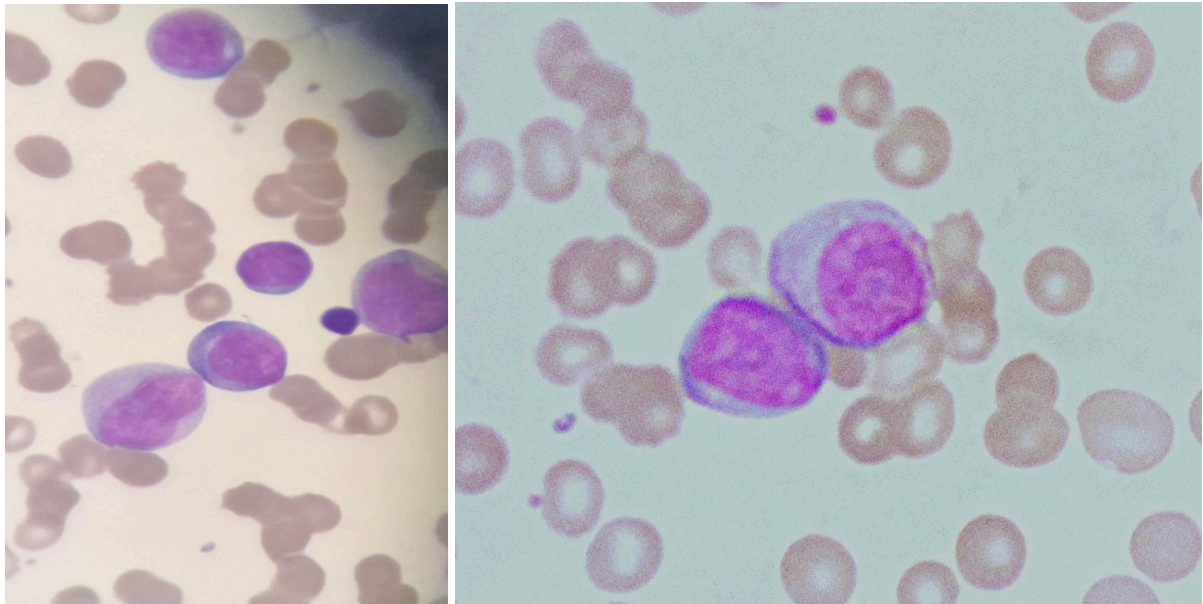
- ***Radiografías de cráneo, tórax, abdomen y miembros:*** normales.
- ***Ecografía de partes blandas:*** la paciente presenta prótesis mamarias bilaterales con signos de rotura y escaso líquido anecoico con finos ecos en proyección a la axila izquierda se visualiza adenomegalia de 16 x 7 mm con hilio conservado.
- ***TAC de abdomen y pelvis:*** se observa una masa pelviana de 17 x 10 mm de aspecto anexial.

Teniendo en cuenta la clínica de la paciente, junto con los resultados de laboratorio obtenidos, se decide su internación, con un diagnóstico presuntivo de pancitopenia en estudio realizando la interconsulta a Servicio de Hematología y al servicio de Ginecología por los datos arrojados en la TAC de abdomen. Ante la evaluación de la paciente por parte del servicio de Hematología y en el contexto pancitopénico de la misma se decide realizar punción de médula ósea para inmunotipificación por citometría de flujo, citogenético de médula ósea y rearrreglos moleculares.

Estudio de médula ósea:

Se realizó punción de médula ósea a partir de la cual se realizó estudio citológico, inmunotipificación por citometría de flujo, estudio citogenético de médula ósea y los rearrreglos moleculares que se describen posteriormente.

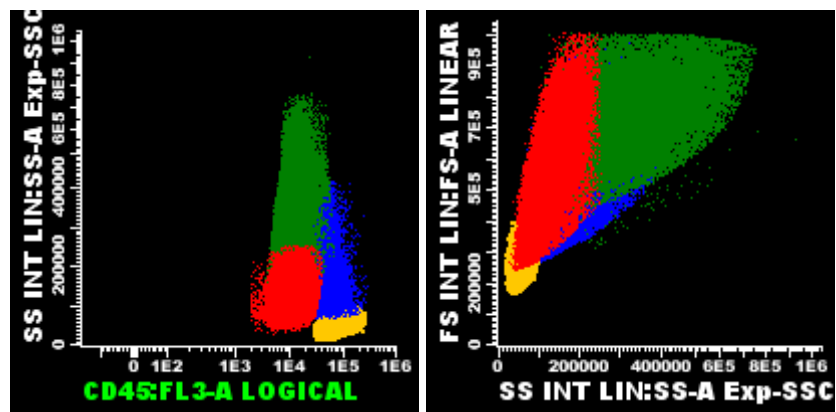
Frotis de médula ósea (May Grunwald-Giemsa): Se observa médula con un porcentaje de blastos mayor al 30%, algunos de los cuales poseen granulaciones compatibles con Leucemia Mieloblástica Aguda M2 (clasificación FAB).



Imágen 4: Frotis de médula ósea.

Inmunofenotipificación por citometría de flujo de Médula Ósea: En el análisis de la punción de Médula ósea se detectó un 43.2% de blastos del total de los elementos con el siguiente perfil inmunofenotípico:

Blastos CD45+dim, **CD117+**, **CD34+**, CD13+,CD11b-, CD10-, CD16-,CD15+,CD20-, CD64-, **CD33+**, IREM2-, CD2-, CD71+, CD14-, CD36-, CD8-, CD4-, CD5-, CD38+, HLA DR+, CD7-, CD19-, CD56-,CD3-, cMPO+, cCD3-.



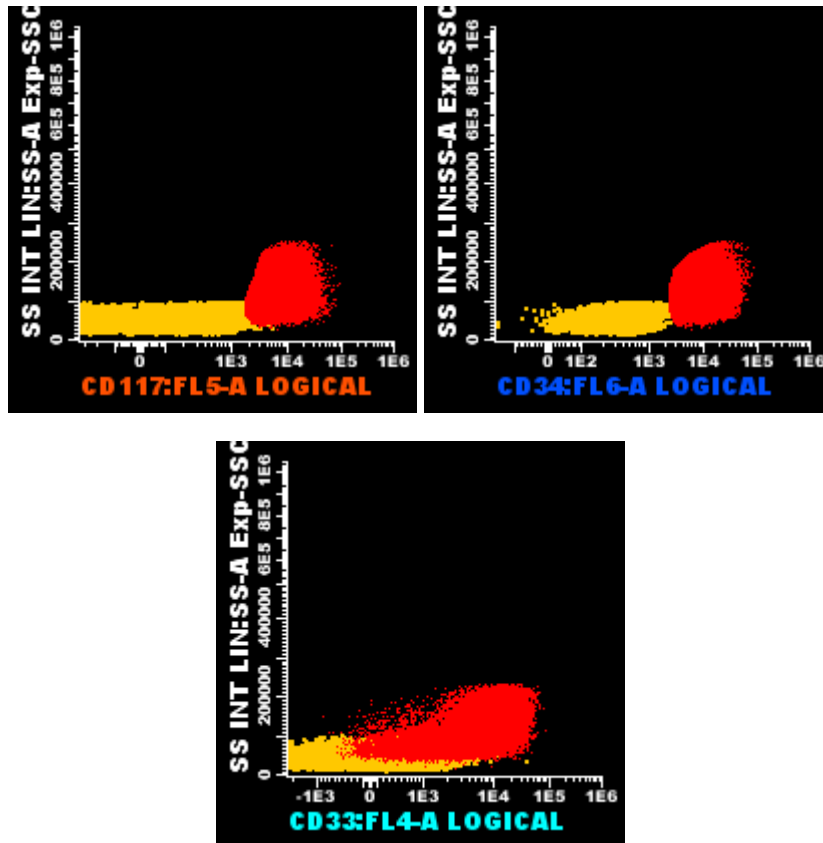


Imagen 5: Histogramas obtenidos por citometría de flujo.

La inmunomarcación es compatible con una **Leucemia Mieloide Aguda**.

Estudios moleculares: Se analizaron distintos rearrreglos y mutaciones para poder interpretarse en el contexto de los otros análisis ya establecidos para el diagnóstico:

- Rearreglo CBFB-MYH11 (Inv. 16): No detectable.
- Rearreglo AML1/ETO cualitativo (T8; 21): No detectable.
- Rearreglo BCR-ABL P210 y P190 cualitativo (T9; 22): No detectable.
- Rearreglo MLL-AF9 (T9; 11): No detectable.
- Mutaciones en el gen CEBPA: El gen no presenta alteraciones con significancias clínicas.
- Mutaciones en el gen ELT 3: No detectable.
- Mutaciones en el gen de la nucleofosmina (NPM1): No detectable.
- PML-RAR cualitativo (traslocación 15:17): No detectable.

Citogenético de Médula ósea: Cariotipo: 46, XX [20] . No se detectaron anomalías cromosómicas numéricas ni estructurales.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La paciente del caso clínico es una mujer mayor que ingresa a la guardia con clínica y un laboratorio compatible con una LMA, ya que se encuentra anémica, trombocitopénica y con un recuento bajo de glóbulos rojos.

Al realizar el frotis del aspirado de médula ósea se observó un recuento mayor al 20% de blastos, el cual es un criterio suficiente para el diagnóstico de una LMA. Aún así, al realizarse estudios moleculares para categorizar esta enfermedad, no se encontraron mutaciones ni rearrreglos detectables.

Los estudios inmunofenotípicos ayudan a distinguir los blastos de la LMA de los de la LLA u otros procesos patológicos. En este caso se realizó la detección de marcadores específicos, como son el CD117, CD34 y CD33, lo cual es esencial para poder clasificar a la enfermedad como una LMA.

Las guías de la Sociedad Argentina de Hematología recomiendan tratamiento combinado con citarabina y antraciclina ("7+3"), discutido previamente en el marco teórico.

En base a los estudios realizados a la paciente en conjunto con el diagnóstico morfológico, por inmunofenotipo y la caracterización genética de las células leucémicas y no habiéndose detectado alteraciones moleculares asociadas a las mismas, puede clasificarse como una ***LMA sin drivers de mutación detectados*** por lo que se la clasifica como de riesgo favorable.

Al combinar un sistema de diagnóstico precoz para la enfermedad, junto con un tratamiento adecuado, las tasas de remisión completa son de aproximadamente del 70 al 85%, disminuyendo la incidencia de CID en un 60% y alargando la supervivencia del paciente a largo plazo.

PERSPECTIVAS

Mediante las distintas pruebas de laboratorio se llegó al diagnóstico de una LMA de riesgo favorable. Aún así, según el algoritmo propuesto por la ELN (imagen 1), al no haberse detectado alteraciones recurrentes, se podría haber seguido estudiando el perfil genético para poder clasificar correctamente la enfermedad. Para esto, se podría haber propuesto el estudio de TP53 y en base al resultado, seguir buscando otras alteraciones.

La LMA es una enfermedad poco frecuente, pero con una clínica potencialmente fatal en el caso de no instaurar un tratamiento precoz de la misma. Para ello es indispensable un trabajo interdisciplinario entre el equipo de salud, siendo las pruebas bioquímicas fundamentales para la confirmación diagnóstica y poder instaurar un tratamiento precoz para lograr la remisión completa de la enfermedad.

Bibliografía

- Agriello Evangelina, Belli Carolina (2023). *Leucemias Agudas*. Sociedad Argentina de Hematología. Obtenido de: [Leucemias_agudas-Guia_2023-Libro.pdf \(sah.org.ar\)](#).
- Ashkan Emadi (2023). *Leucemia Mieloide Aguda*. Obtenido de: [Leucemia mieloide aguda \(LMA\) - Hematología y oncología - Manual MSD versión para profesionales \(msdmanuals.com\)](#).
- NIH (Instituto Nacional del Cáncer) (2024). *Tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda*. Obtenido de: [Tratamiento de la leucemia mieloide aguda \(PDQ®\) \(cancer.gov\)](#).

Alumna: Damasco, Araceli; Micheloni, Josefina

Tutor Académico: Munuce, María José

Lugar de realización: Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez (HECA)

Póster



Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

DETERMINACIÓN DE TROPONINA I ULTRASensible POR miniVIDAS



HECA

Damasco, Araceli¹, Micheloni, Josefina², Álvarez, Sandra³, Munuce, María J.¹

¹ Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² Laboratorio Bioquímico-Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez, Municipalidad de Rosario

INTRODUCCIÓN

La Troponina I libre se a la circulación cuando hay un daño cardíaco, de tal forma variaciones en su concentración pueden utilizarse como marcador de lesión aguda así como también en eventos crónicos. Sin embargo, es muy importante tener en cuenta la historia clínica y el estado del paciente, para una correcta interpretación de los resultados. En la actualidad, los inmunosensibles ultrasensibles pueden determinar concentraciones < 1 ng/L, que son de 1 a 10 veces menores que las detectadas por metodologías convencionales.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia y utilidad de la determinación de Troponina I ultrasensible mediante tecnología miniVIDAS en el Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez

TÉCNICA ANALÍTICA

Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) combina un método inmunocromatográfico de tipo sándwich en una etapa con una detección final por fluorescencia (Figura 1). La reacción involucra un sistema de pipeteo (SPH), un strip y un sistema óptico que puede desplazarse por el instrumento para leer la prueba correspondiente (Figura 2). Se trata de reacciones dinámicas. Se colocan 200 µL de muestra en el pozo 1 del strip. El caso SPH suena a la vez de fase sólida donde se lleva a cabo la reacción (debida a que se encuentran reactivos en su interior con inmunoglobulinas monoclonales de ratón frente a la TroI), y de dispositivo de pipeteo. El SPH aspira la muestra, se forma el complejo TroI-Au-e-TroI, el cual mediante ciclos de aspiración y aspiración avanza a lo largo del strip donde reacciona con el de conjugado con fluoresceína alantais en el pozo 5, se realizan lavados sucesivos en los pozos 6, 7 y 8 y finalmente, en el décimo pozo se encuentra el sustrato 4-MUP a partir del cual por acción enzimática se forma el producto fluorescente, 4-metil umbelliferona, el cual tiene la propiedad de volver a emitir la luz a 450 nm previa excitación a 370 nm. Las muestras utilizadas son suero o plasma humano con heparina de litio. Cada vez que se abre un nuevo lote de reactivos y cada 56 días se realiza la calibración mediante dos calibradores, y dos controles cuando se abre la nueva caja de reactivos. Los resultados que se muestran por el instrumento (Figura 3) van desde 1,5 a 40000 ng/L. Las muestras con concentraciones superiores al valor máximo del equipo se deberán volver a analizar después de diluirlas. Si con el diluyente del kit VIDAS High Sensitive Troponin I. Los resultados se expresan en ng/L o pg/mL.

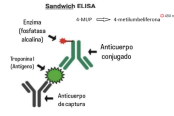


Figura 1: Representación gráfica de la técnica ELISA

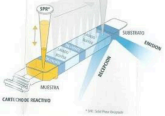


Figura 2: Etapa crucial de aspiración-expiración en los pocillos del strip



Figura 3: Equipo miniVIDAS

RESULTADOS

En el Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez, la determinación de la Troponina I ultrasensible presenta una elevada utilidad debido a que esta institución posee una Unidad de Dolor, por lo que se utiliza este método para descartar cualquier tipo de dolor torácico inespecífico, que puedan conducir a un IAM o una afección a nivel cardíaco. La muestra se toma por punción venosa y se utiliza heparina como anticoagulante, no se debe utilizar EDTA debido a que causa una disminución en los valores medidos. Es de suma importancia no utilizar muestras con hemólisis, lipemias o ictericias debido a que pueden interferir en la determinación. El método miniVIDAS cumple un rol esencial en el laboratorio de emergencias debido a que otorga el resultado en tan solo 15 minutos y presenta una calibración estable. En la Gráfica 1 se observa la distribución mensual (20-30 determinaciones [mes]) a lo largo del 2023-2024, lo que evidencia la elevada relación costo-beneficio de la misma. El doaje de la Troponina I ultrasensible es seriado, lo que permite la realización de una curva de seguimiento (esta institución generalmente la realiza con tres puntos). En la Gráfica 2 se representa la curva obtenida para una paciente que ingresa a UTI con un dolor torácico inespecífico, se realiza un electrocardiograma con cambios electrocardiográficos sin cambios hemodinámicos y se le solicita la determinación de Troponina I.

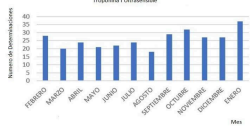


Gráfico 1: Distribución de frecuencia mensual de TroI ultrasensible durante febrero del 2023 y enero del 2024

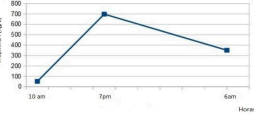


Gráfico 2: Seguimiento de paciente con TroI ultrasensible (curva típica de un paciente al azar)

CONCLUSIÓN

La Troponina I ultrasensible se caracteriza por ser el marcador cardíaco de elección en la actualidad para el diagnóstico bioquímico del daño miocárdico. Presenta una mayor capacidad de detección, lo que permite descubrir eficientemente este daño en sus fases iniciales, reduciendo el periodo ventana.

Permite un diagnóstico precoz, estratificación del riesgo, establecimiento del pronóstico y toma de decisión de la mejor opción terapéutica para el paciente.

PERSPECTIVAS

En el HECA, utilizar un método inferior en sensibilidad que el de la miniVIDAS podría dar resultados poco fiables y descartar diagnósticos ciertos y a bien hay ELISAs de alta sensibilidad, presentan tiempos prolongados, y siendo esto en un hospital de emergencias, este parámetro es sumamente importante. Con estas consideraciones el ELISA es un método que cumple con las exigencias necesarias para dicho hospital.

BIBLIOGRAFÍA



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29359>



“Determinación de Troponina I ultrasensible por MiniVIDAS”

Autoras: Damasco Araceli, Micheloni Josefina

Tutoras: Munuce Maria Jose, Álvarez Sandra

Institución: Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez

PRESENTACIÓN

En este trabajo se desarrollará la determinación de Troponina I ultrasensible (TnIUS) mediante un ensayo de fluorescencia ligado a enzima, Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA), utilizando el equipo MiniVIDAS llevada a cabo en el Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez (HECA) durante las Prácticas Profesionales Obligatorias de la carrera de Bioquímica. Es una prueba cuantitativa automatizada, que se realiza en suero o plasma humano. Está indicada para utilizarla como prueba auxiliar en el diagnóstico de Infarto Agudo de Miocardio (IAM) y para establecer la estratificación de riesgos en pacientes con signos y síntomas indicativos de un Síndrome Coronario Agudo (ACS) en lo que respecta al riesgo relativo de mortalidad por todas las causas y acontecimientos adversos cardíacos importantes, incluyendo el IAM y la revascularización a los 30 días.

De igual manera, se expondrá la importancia de dicha determinación en esta institución mostrando estadísticas y relación costo-beneficio.

MARCO TEÓRICO

1. Troponina

Las troponinas cardíacas (Tnc) son proteínas que forman parte de un complejo del filamento delgado del sarcómero y regulan la excitación-contracción del músculo cardíaco. Este complejo consta de tres componentes polipeptídicos distintos:

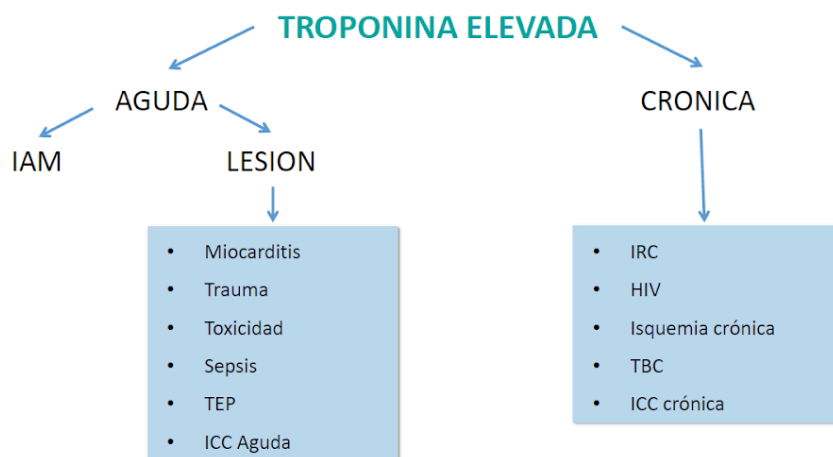
- Troponina C: que fija el Calcio
- Troponina T (TnT): que liga el complejo Troponina a la Tropomiosina
- Troponina I (TnI): que es la subunidad inhibidora del complejo Troponina/Tropomiosina.

Durante la isquemia y la necrosis cardíaca se pierde la integridad de las membranas teniendo como resultado la liberación de macromoléculas y una acidosis intracelular que activa enzimas proteolíticas. Estas degradan diversas estructuras, incluyendo el aparato contráctil. Su desintegración es un proceso lento y sus proteínas unidas estructuralmente (TnI, TnT y la cadena pesada de la miosina) aparecen en la sangre más tarde que las proteínas citoplasmáticas (mioglobina, glucógeno-fosforilasa y creatin quinasa (CK) citoplasmática).

Por lo tanto, el modo y tiempo de aparición de las proteínas miocárdicas en la sangre depende de la localización intracelular, del peso molecular, de si está libre o en forma de complejos y del índice de aclaramiento de la sangre (Gonzalez, D., y col., 2000).

Las variantes cardíacas de la TnT y TnI difieren en su estructura de las variantes de los músculos esquelético y liso. Otorgándoles una elevada especificidad como marcador de lesión cardíaca.

Hay diversas causas, tanto agudas como crónicas, que pueden aumentar las Tnc [Cuadro 1].



Cuadro 1: Causas de aumento de las Tnc

El incremento en la especificidad, se logra mediante el dosaje seriado. Cuando se observan aumentos o disminuciones puede usarse como marcador de lesión aguda, a diferencia del hallazgo de valores estables que sugiere eventos crónicos. Sin embargo, es muy importante tener en cuenta la historia clínica y el estado del paciente, para una correcta interpretación de los resultados (Mariño, M., 2019).

1. 1 Troponina I ultrasensible

En la actualidad, los inmunoanálisis ultrasensibles pueden determinar concentraciones de 5 a 10 veces menores que las detectadas por metodologías convencionales, que tienen menos precisión analítica. Varios autores han avalado la idea de

que los métodos de alta sensibilidad deben detectar TnI en la mayoría de los sujetos sanos (Hernández Ramírez, J., y col., 2020).

Las limitaciones de los ensayos ultrasensibles radican en la variabilidad que existe en los distintos grupos de edad, además de otros factores que modifican los niveles basales, como el género, la existencia de una patología miocárdica no isquémica previa y la función renal, lo que disminuye su especificidad y el valor predictivo positivo que puedan poseer. Se ha demostrado que la elevación de la TnIUS de manera inicial con o sin aumento en los niveles de TnI por el método convencional confiere un incremento en la mortalidad cardiovascular en general, lo que indicaría una utilidad no sólo diagnóstica sino pronóstica en la evaluación del riesgo cardiovascular de los pacientes en el servicio de urgencias (Pérez Cervantes J.A., y col., 2018).

La mayor capacidad de detección que presenta la TnIUS permite descubrir eficazmente áreas de daño miocárdico en sus fases iniciales, reduciendo los periodos ventana, y también permite un diagnóstico precoz (Mariño. M, 2019).

2. Técnica analítica: MiniVIDAS

La tecnología utilizada es el ELFA que combina un método inmunoenzimático (ELISA) de tipo sándwich en una etapa con una detección final por fluorescencia. Esta determinación se basa en su concepto único, que significa que para un paciente se realiza una prueba, obteniendo un único resultado.

La reacción se lleva a cabo de forma dinámica involucrando: un sistema de pipeteo (bloque SPR), mediante el cual VIDAS maneja los reactivos, que sube y baja lo que le permite al SPR acceder a cada pocillo y pipetear cada uno de ellos; la tira (strip) [Imagen 1], que presenta diez pocillos [Tabla 1] y se mueve horizontalmente para colocar el pocillo requerido debajo del SPR; y un sistema óptico que puede desplazarse por el instrumento para leer la prueba correspondiente. Se trata de reacciones dinámicas debido a que en cada etapa el cono SPR aspira y vierte varias veces el reactivo, donde finalmente en el último pocillo se realiza la lectura de fluorescencia [Imagen 2].

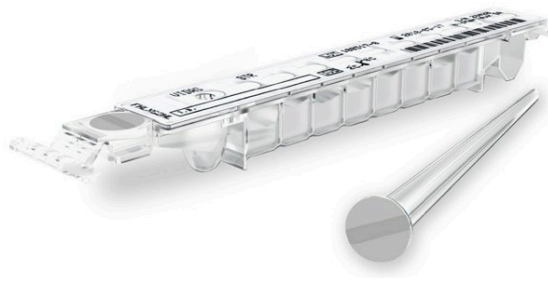


Imagen 1: Cono SPR y strip

Pocillos	Reactivos
1	Pocillo de muestra.
2 - 3 - 4	Pocillos vacíos.
5	Conjugado: anticuerpos monoclonales frente a la troponina marcados con fosfatasa alcalina.
6 - 7 - 8	Tampón de lavado.
9	Pocillo vacío.
10	Cubeta de lectura con sustrato: 4-metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/L) + dietanolamina (DEA) (0,62 mol/L o 6,6 %, pH 9,2) + 1 g/L azida de sodio (300 µL).

Tabla 1: Contenido de los pocillos del strip

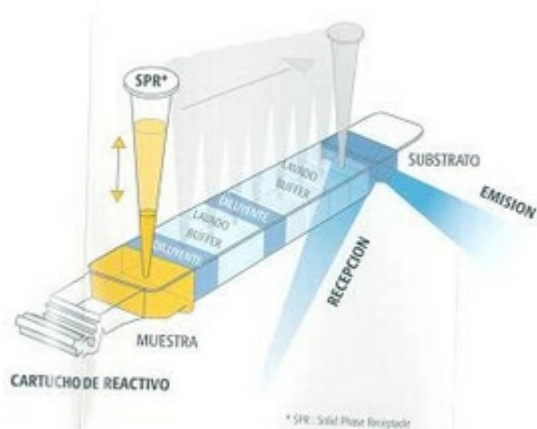


Imagen 2: Etapas sucesivas de aspirado de los distintos reactivos presentes en la tira

El cono SPR sirve a la vez de fase sólida donde se lleva a cabo la reacción, debido a que se encuentra recubierto en su interior con inmunoglobulinas monoclonales de ratón frente a la troponina I cardíaca (TnIc), y de dispositivo de pipeteo. La tira contiene todos los reactivos de un solo uso sellados, necesarios para la reacción, listos para usar, sin fluidos circulantes y sin contaminación cruzada.

Por lo tanto, el instrumento realiza automáticamente todos los pasos. La muestra se transfiere a los pocillos que contienen los anticuerpos frente a la TnIc marcados con fosfatasa alcalina (conjugado). La mezcla de la muestra/conjugado se procesa en varios ciclos de aspiración/expulsión del cono SPR hasta formar un sándwich [Imagen 3]. Los componentes no fijados se eliminan durante las etapas de lavado.

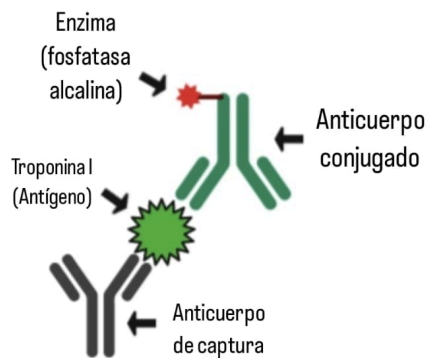


Imagen 3: Representación grafica de la tecnica ELFA

En la gama VIDAS, la enzima utilizada es la fosfatasa alcalina y el sustrato es el 4-metilumbeliferil fosfato (4-MUP) que se hidroliza en 4-metil umbeliferona, la cual tiene la propiedad de volver a emitir la luz a 450 nm previa excitación a 370 nm. La intensidad de la fluorescencia es proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra.

Al final de la determinación, el equipo calcula los resultados mediante dos curvas de calibración almacenadas en este, y se expresan en ng/L (o pg/mL). Los resultados que se muestran por el instrumento van desde 1,5 a 40000 ng/L. Las muestras con concentraciones superiores al valor máximo del equipo se deberán volver a analizar después de diluirlas al $\frac{1}{4}$ con el diluyente del kit VIDAS High Sensitive Troponin I. Si bien este rango de valores es el que muestra el equipo, el rango de medición de esta prueba se extiende de 4,9 a 40000 ng/L.

La calibración se debe efectuar con los dos calibradores (S1 y S2) cada vez que se abre un nuevo lote de reactivos y cada 56 días. Se deben analizar ambos calibradores por duplicado y el valor de los mismos debe estar comprendido en los límites de RFV (Relative Fluorescence Value) fijados. Los calibradores están constituidos por suero humano, TnI y un conservante; se deben reconstituir con 2 mL de agua destilada y homogeneizar hasta su

completa disolución. Tras la reconstitución, el control permanece estable durante 8 horas a 2°C/8 °C, o hasta la fecha de caducidad del equipo a -31°C/-19°C.

La determinación presenta dos controles (C1 y C2) que deben utilizarse cuando se abre una nueva caja con el fin de verificar la ausencia de alteración de los reactivos. También es necesario comprobar cada calibración mediante el uso de estos. Si los valores de los controles se desvían de los esperados, los resultados no se podrán validar. Las condiciones de reconstitución y almacenamiento son las mismas que para los calibradores.

Las muestras utilizadas son suero o plasma humano con heparina de litio, no se debe utilizar EDTA como anticoagulante debido a que causa una disminución en los valores medidos. Es aconsejable no utilizar muestras con hemólisis, lipémicas o ictericas debido a que pueden interferir en la determinación. En las muestras de suero, se debe comprobar que se haya formado completamente el coágulo antes de la centrifugación.

El suero y plasma pueden conservarse en tubos primarios a 25°C durante 4 horas, o a 8°C hasta un máximo de 48 horas. Si se precisa una conservación más prolongada, congelar las muestras alicuotadas a -25°C durante 1 mes o a -60°C durante 4 meses, con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación.

Los reactivos nuevos y en uso se almacenan a 2/8°C. Se deben atemperar antes de ser utilizados (BioMerieux, 2021).

3. Otras técnicas:

Existen otros métodos para determinar Tn, como es el Radioinmunoensayo, Inmunoensayo Enzimático (ELISA), y el Inmunoensayo de Electroquimioluminiscencia (ECLIA).

El primer método para la determinación de la TnIc, se basó en Radioinmunoensayo. Presentaba un umbral de detección de 10 µg/L y un tiempo de ejecución largo (1-2 días). Debido a la baja sensibilidad y a la duración del estudio, este método solo podía revelar IAM extenso, por lo cual la TnI fue significativamente inferior a la enzima CK-MB. Luego surgió el ELISA con límite de detección de 100 ng/L para la TnIc y tiempo de análisis de 90 minutos. Las concentraciones máximas de esta se correlacionaron con las de CK-MB. Este inmunoensayo, fue superior a los biomarcadores estándar utilizados en aquel momento para diagnosticar el IAM. Sin embargo, todavía se consideraba que presentaba baja sensibilidad y

un tiempo promedio prolongado para el diagnóstico preciso del IAM. Con el correr del tiempo, estos ensayos se fueron perfeccionando, utilizando distintos anticuerpos monoclonales, y anexándolo a diferentes plataformas, como el ELFA y ECLIA obteniendo así ensayos de alta sensibilidad y ultrasensibilidad (Chaulin, A., 2021). El ECLIA, parte del mismo fundamento que los ELISA, pero la enzima conjugada cataliza una reacción quimioluminiscente que resulta en la emisión de fotones, produciendo luz. La luminometría proporciona una sensibilidad excepcionalmente alta y rapidez en la determinación (Fundación IO, 2020).

RESULTADOS

En el HECA, la determinación de la TnIUS presenta una elevada utilidad debido a que esta institución se caracteriza por presentar una Unidad de Dolor, por lo que se utiliza este método para descartar cualquier tipo de dolor torácico inespecífico, que puedan conducir a un IAM o una afección a nivel cardíaco.

La etapa pre-analítica es relevante en este caso. Primeramente, la orden médica que solicita la determinación de TnIc debe estar firmada por un médico cardiólogo, de lo contrario se rechaza la solicitud. La muestra se toma por punción venosa y se utiliza heparina como anticoagulante. Es de suma importancia no utilizar muestras con hemólisis, lipémicas o ictéricas debido a que pueden interferir en la determinación.

El método miniVIDAS cumple un rol esencial en el laboratorio de emergencias debido a que otorga el resultado en tan solo 15 minutos. Presenta una calibración estable, eso permite que en el HECA solo se realice cuando se cambia el lote de reactivos, generalmente cada 15-30 días.

La frecuencia con la cual se solicita este análisis es alta, en un rango de 20 a 30 determinaciones por mes [Gráfico 1]. La relación costo/beneficio es elevada en estos casos, debido a que al realizarse en los pacientes que arriban a la Unidad de Dolor, aquellos que presenten una TnIc aumentada, ocuparan una cama en Unidad Coronaria y el costo de la misma superaría ampliamente los costos de la determinación. De esta forma, se evita ocupar un lugar en aquellas situaciones que no lo ameritan.

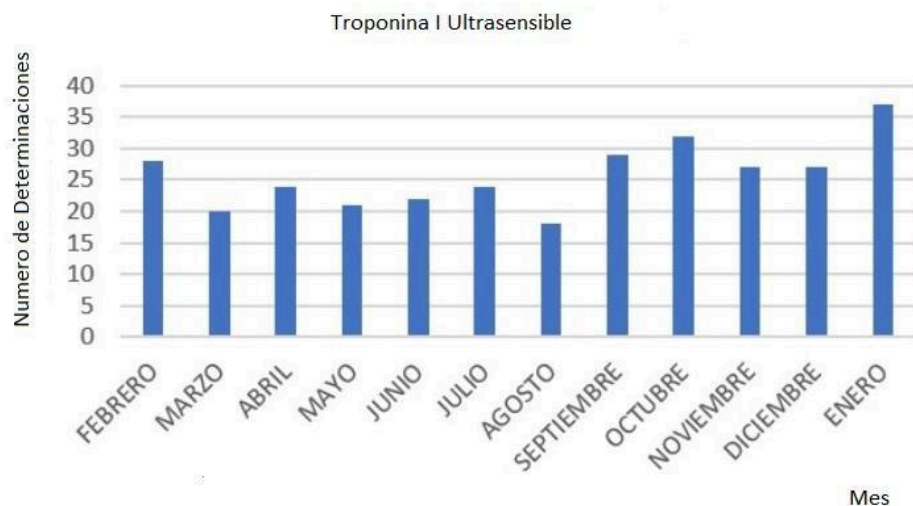


Gráfico 1: Frecuencia de determinaciones de TnIUS desde febrero del 2023 hasta enero del 2024

El dosaje de la TnIUS es seriado, lo que permite la realización de un curva de seguimiento. Generalmente, está institución solo trabaja con tres puntos. Se utilizó un paciente femenino de 47 años, para ejemplificar este proceso, que ingresa al servicio de Guardia con antecedentes de Hipertensión Arterial y Diabetes Mellitus por presunta Colecistitis Gangrenosa Complicada. Se halló una úlcera vesiculoduodenal y falla renal. Ingresa a la Unidad de Terapia Intensiva donde se encontraba inestable hemodinámicamente, con acidosis metabólica y presencia de sudoración. Presenta dolor torácico inespecífico por lo que se realiza un electrocardiograma con cambios electrocardiográficos sin cambios hemodinámicos por lo que se decide solicitar la determinación de TnIc. Se realizó la curva [Gráfico 2] donde se observa la etapa de ascenso y descenso de la TnIc en función del tiempo, alcanzando su valor máximo alrededor de las 7:00 pm. El periodo de tiempo en el cual se realizaron los análisis no fue constante, sino que se empleó un rango de 8 horas entre la primera y segunda determinación y de 11 horas entre la segunda y tercera.

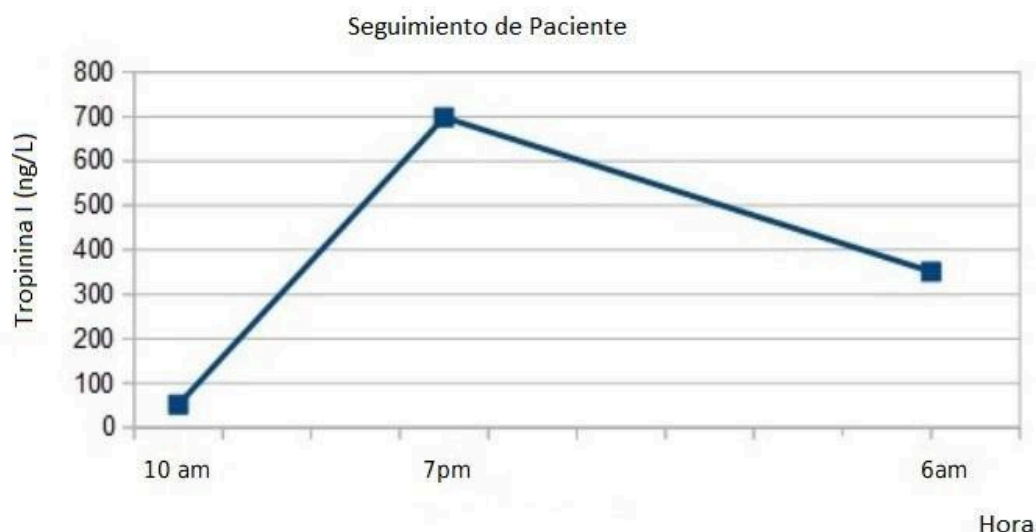


Gráfico 2: Seguimiento de un paciente a través de la TnIUS.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La TnI se caracteriza por ser el marcador cardíaco de elección en la actualidad para el diagnóstico bioquímico del daño miocárdico.

Actualmente, a través de distintos estudios se puede evaluar que la TnIUS presenta una mayor capacidad de detección, lo que permite descubrir eficazmente el daño miocárdico en sus fases iniciales, reduciendo el periodo ventana. Permite un diagnóstico precoz, estratificación del riesgo, establecimiento del pronóstico y toma de decisión de la mejor opción terapéutica para el paciente.

PERSPECTIVAS

A lo largo del trabajo se mencionaron aspectos tanto teóricos como prácticos acerca de la determinación de la TnIUS en el HECA. Un aspecto importante que se sugiere mejorar es el número de determinaciones y la frecuencia con la que se solicita el análisis durante el seguimiento de un paciente debido a que mediante el dosaje seriado se logra aumentar la especificidad de este marcador cardíaco.

En este hospital, utilizar un método inferior en sensibilidad que al de la gama VIDAS podría dar resultados poco fiables y descartar diagnósticos certeros y si bien hay ELISAS de alta sensibilidad, presentan tiempos prolongados, y siendo este un hospital de emergencias,

este parámetro es sumamente importante. Con estas consideraciones el ELFA es un método que cumple con las exigencias necesarias para dicho hospital.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gonzalez, D., Gomez, L., Torres. M.(2000). *La troponina I cardíaca: marcador bioquímico de elección del daño miocárdico.*
<http://www.bioline.org.br/request?ba00019>
2. Mariño, M. (2019). *Temas destacados en clínica médica. Diagnóstico, tratamiento y su relación con parámetros.*
<https://www.cibic.com.ar/wp-content/uploads/2019/04/Clase-Dolor-tor%C3%A1cico-de-origen-cardiovascular-Bioq.-Mat%C3%ADas-Mari%C3%B1o-2021-compressed.pdf>
3. Hernández Ramírez, J., Núñez Martínez, M., Domínguez Silva, J. (2020, 16 de Marzo). *Interpretación de biomarcador de patología cardíaca aguda vs crónica con el uso de troponina I ultrasensible (HsCTnI) en población de Hospital de Tercer Nivel de Atención.*
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=93846>
4. Pérez Cervantes J.A., Mérito Azpiri. C., Montoya González. C., Hernández Franco, S., (2018, Marzo). *La unidad de dolor torácico en el servicio de urgencias y el uso de la escala PRETEST y troponina I ultrasensible. Nuevo abordaje con una vieja herramienta.*
https://www.researchgate.net/profile/Celso-Montoya-Gonzalez/publication/331262182_Unidad_de_dolor_toracico/links/5c6f3169458515831f651339/Unidad-de-dolor-toracico.pdf
5. BioMerieux. (2021). *Vidas®*, *High Sensitive Troponin I (TNHS)*.
6. Chaulin, A. (2021). *Característica actual de los métodos para la determinación de troponinas cardíacas y su valor diagnóstico: minirrevisión.*
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8765385/>
7. Fundación iO. (2020, 19 de Junio). *ELISA vs CLIA.*
<https://fundacionio.com/elisa-vs-clia/#:~:text=Los%20ensayos%20CLIA%20parten%20del,un%20cambio%20de%20color%20visible.>

Alumna: Gunzinger, Paula; Hernet, Camila

Tutor Académico: Martínez, Carolina

Lugar de realización: Sanatorio Británico

Póster



RESULTADOS

“Seguimiento de pacientes en plan de trasplante de médula ósea desde el Laboratorio del Sanatorio Británico”

Hernet, Camila¹; Gunzinger, Paula¹; Castellari, Celia²; Nicolich, Virginia²; Mellano, Soledad²; Rinaudo, Mariangel^{1,2}; Martínez, Carolina¹.
Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR¹; Sanatorio Británico, Rosario².

INTRODUCCIÓN

Se presentará el procedimiento analítico llevado a cabo en las distintas secciones del laboratorio bioquímico en relación con pacientes que ingresan con trastornos hematológicos que requieren trasplante de médula ósea. Se considerarán áreas como preanalítica, hematología, química, inmunquímica, microbiología, biología molecular, y postanalítica para garantizar una atención integral y precisa.

Todos los procedimientos son detallados en normas activas que fueron acreditadas por el Instituto Técnico para la Acreditación de Establecimientos de Salud (ITAES).

OBJETIVOS	MATERIALES Y MÉTODOS
✓ Detallar el procedimiento llevado a cabo en las distintas secciones del laboratorio bioquímico en pacientes en proceso de trasplante de médula ósea, desde la fase preanalítica hasta la postanalítica. ✓ Discutir la importancia de la comunicación interdisciplinaria y el cumplimiento de normativas para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados analíticos.	Hematología: Sysmex XN 1000 y CELL-DYN Ruby para hemograma. Química/inmunoquímica: Architect i1000. Microbiología: test rápido por inmunocromatográficas. Biología molecular: - kit AltonaStar® CMV PCR, - kit AltoStar® Influenza Screen & Type. - kit TaqPath™ COVID-19 RT-PCR.

	PRE-TRASPLANTE	POST-TRASPLANTE
PREANALÍTICA	Las muestras de sangre (venosa o arterial) se recolectan en tubos específicos según el análisis (química, hematología, coagulación, etc.). Las muestras microbiológicas se toman según protocolos del sanatorio. Todas las muestras se etiquetan con códigos de barras únicos en el sistema Datatch y se colocan en contenedores para su procesamiento.	
HEMATOLOGÍA	Se monitorea con hemograma para detectar alteraciones en hemoglobina y leucocitos inmaduros.	Se monitorea con el hemograma y el recuento de reticulocitos para evaluar la recuperación de la médula ósea del paciente.
QUÍMICA/ INMUNOQUÍMICA	-Se evalúa la función hepática, renal y metabólica, marcadores tumorales -Detecciones serológicas rutinarias de infecciones virales (Hepatitis B, C y VIH) -Se monitoriza los niveles de inmunosupresores	Se monitorea los niveles de inmunosupresores
MICROBIOLOGÍA	Se realizan análisis parasitológicos e hisopados (nasales/anales) en búsqueda de portación de microorganismos colonizantes como Staphylococcus aureus y Escherichia coli.	-Se monitorean semanalmente posibles colonizaciones mediante hisopados anales. -Si tiene síntomas como diarrea o fiebre, se hacen coprocultivos, hemocultivos, y pruebas rápidas de toxina de C. difficile, COVID-19, influenza, y dengue.
BIOLOGÍA MOLECULAR	Se detecta de rutina Citomegalovirus (seguimiento semanal) y COVID-19. La detección de dengue, influenza A y B se realiza solo ante síntomas.	En caso de presencia sintomatológica, se solicita determinación de posibles agentes patológicos.
POSTANALÍTICA	Los resultados pasan por dos fases de validación antes de ser informados: validación técnica , realizada automáticamente por los analizadores, y validación clínica , donde el bioquímico evalúa la coherencia con el diagnóstico y otros factores. Luego las muestras se almacenan según la norma NAE-SBLab 010. Los resultados se cargan en el sistema DATATCH, accesibles para los médicos, y se facilita la comunicación entre médicos y bioquímicos para decisiones clínicas.	

CONCLUSIONES

El trabajo presentado detalla exhaustivamente el proceso llevado a cabo en el laboratorio bioquímico del Sanatorio Británico en relación con pacientes que ingresan con trastornos hematológicos, desde la fase preanalítica hasta la postanalítica, abarcando áreas como microbiología, hematología, química e inmunquímica, y biología molecular.

El enfoque multidisciplinario y riguroso presentado refleja el compromiso de la institución con la calidad de la atención bioquímica, basada en evidencia científica y en el respeto por la ética y la dignidad de los pacientes. Se destaca la importancia de la comunicación interdisciplinaria y el seguimiento de normativas y protocolos específicos para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29362>

Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

“Seguimiento de pacientes en plan de trasplante de médula ósea desde el Laboratorio del Sanatorio Britanico”

Asignatura: Práctica Profesional Obligatoria

Integrantes:

- ❖ Hernet, Camila
- ❖ Gunzinger, Paula

Tutores:

- ❖ Bioq. Martinez, Carolina
- ❖ Bioq. Rinaudo, Mariangel

Institución de rotación:

Sanatorio Britanico

Año 2024

ÍNDICE

Presentación.....	3
Marco teórico.....	3
-TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA:.....	3
-NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS:.....	3
Leucemias:.....	3
Linfoma:.....	4
Mieloma múltiple (MM):.....	4
- AREAS DEL LABORATORIO:.....	5
1. Preanalítica.....	5
2. Hematología.....	5
3. Microbiología.....	5
4. Química e Inmunoquímica.....	5
5. Biología molecular.....	6
6. Postanalítica.....	6
Objetivos.....	6
- Objetivo General:.....	6
- Objetivos Específicos:.....	7
Resultados.....	7
ÁREA PREANALÍTICA.....	7
ÁREA HEMATOLOGÍA.....	8
AREA MICROBIOLOGIA.....	9
ÁREA QUÍMICA/INMUNOQUÍMICA.....	9
ÁREA BIOLOGÍA MOLECULAR.....	10
POSTANALÍTICA.....	11
Conclusión.....	11
Perspectivas.....	12
Bibliografía.....	12

Presentación.

El presente trabajo se enfocará en detallar el procedimiento analítico llevado a cabo en las distintas secciones del laboratorio bioquímico en relación con pacientes que ingresan con trastornos hematológicos que requieren trasplante de médula ósea. Se considerarán áreas como preanalítica, hematología, química, inmunoquímica, microbiología, biología molecular, y postanalítica para garantizar una atención integral y precisa.

Todos los procedimientos son detallados en normas activas que fueron acreditadas por el Instituto Técnico para la Acreditación de Establecimientos de Salud (ITAES).

Marco teórico.

Los pacientes enfocados en este trabajo son pacientes diagnosticados con trastornos hematológicos, y derivados a trasplante.

-TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA:

El trasplante de médula ósea se ha implementado como una alternativa terapéutica exitosa en diversas patologías malignas y benignas.

Las indicaciones de este tratamiento van desde neoplasias hematológicas como linfomas, mielomas, leucemias, algunos tumores sólidos hasta enfermedades de tipo autoinmune. El objetivo principal del trasplante de médula ósea consiste en la administración de altas dosis de quimioterapia, que permiten tratar la patología de base pero también depletan la médula ósea por lo que se requiere la reinfusión de las células progenitoras para recuperar las funciones hematopoyéticas.¹

Entre las complicaciones inmediatas secundarias a la aplasia inducida por las quimioterapias a altas dosis los pacientes tienen un mayor riesgo a sufrir infecciones debidas a gérmenes oportunistas y patógenos.¹

-NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS:

Leucemias:

Son procesos malignos, genéticamente heterogéneos, de naturaleza clonal y adquiridos, que compromete la médula ósea y la sangre periférica, con posterior sistematización al resto de los órganos, fundamentalmente bazo e hígado.²

Según la forma de presentación las leucemias se clasifican en agudas y crónicas. Las leucemias agudas se caracterizan por una proliferación de células inmaduras, blastos, y la presencia de hiatus leucémicos; con una evolución agresiva y sin tratamiento la sobrevida

puede ser muy corta. En cambio las leucemias crónicas se caracterizan por una evolución menos agresiva, en sangre periférica presenta elementos maduros. ²

Tipos de leucemias:

- Leucemias mieloides.
- Leucemias linfoides.

Linfoma:

Al igual que las leucemias es una neoplasia hematológica, que compromete a nivel de los ganglios linfáticos y otros tejidos linfoides, sin invasión de sangre periférica. Cuando estos invaden sangre periférica se denomina linfoma leucemizados. ²

Las células comprometidas en los linfomas pueden ser diversos progenitores de células B, células T o células T natural killer (NK). La clasificación de la OMS (2008) identifica dos categorías:

- Linfoma de células B no clasificable, con características intermedias entre linfoma difuso de células grandes B y linfoma de Burkitt.
- Linfoma de células B no clasificable, con características intermedias entre linfoma difuso de células grandes B y linfoma de Hodgkin clásico.³

Mieloma múltiple (MM):

Es una neoplasia maligna de células B terminalmente diferenciadas (células plasmáticas) que produce una inmunoglobulina monoclonal completa y / o parcial (cadena liviana), que se conoce como proteína M.

Las células del mieloma pueden secretar cadenas pesadas y livianas de Igs, cadenas livianas o ninguna (mieloma no secretor). En este último caso, se detectan Igs citoplasmáticas.

El MM se caracteriza por la activación generalizada de osteoclastos y la supresión de la función de los osteoblastos. Las células plasmáticas malignas liberan citoquinas que activan los osteoclastos. Esto produce lesiones osteolíticas que debilitan la matriz ósea, dando lugar a fracturas patológicas. Los síntomas del mieloma son debidos por un lado a la infiltración de la MO por las células neoplásicas y por el otro a la presencia de la proteína monoclonal. ²

Se describen las diferentes áreas del laboratorio comprometidas en el diagnóstico y seguimiento del paciente.

- AREAS DEL LABORATORIO:

1. Preanalítica

La etapa preanalítica es fundamental para garantizar la calidad y precisión de los resultados en el análisis de muestras de pacientes. En esta fase, se les da indicaciones al paciente para su preparación, así como también se establecen protocolos rigurosos para la correcta recolección, identificación y transporte de las muestras, minimizando así el riesgo de contaminación o deterioro.⁴

2. Hematología

La sección de hematología desempeña un papel central en el análisis y diagnóstico de los trastornos hematológicos. Se estudia el hemograma, recuento de reticulocitos, velocidad de eritrosedimentación, estudios de coagulación como tiempo de protrombina (TP), y tiempo de tromboplastina parcialmente activado con caolín (KPTT), proporcionando información crucial para el diagnóstico y seguimiento de estas condiciones.

Dentro del estudio del Hemograma completo se incluye hematocrito (Hto), concentración de la hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), volumen corpuscular medio (VCM), recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas, fórmula leucocitaria.⁵

3. Microbiología

En el laboratorio de microbiología clínica se analizan muestras microbiológicas, con el objetivo principal de aislar y cultivar microorganismos patógenos y colonizantes. Estos análisis tienen el propósito de facilitar el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de diversas enfermedades.⁶

4. Química e Inmunoquímica

La química clínica proporciona información sobre los niveles de sustancias químicas en el suero o plasma sanguíneo.

La inmunoquímica se utiliza para la detección y cuantificación de proteínas y anticuerpos en muestras biológicas. Se pueden realizar pruebas inmunoquímicas para identificar la presencia de factores de coagulación, anticuerpos antifosfolípidos y marcadores específicos de enfermedades autoinmunes o malignas.

La serología se utiliza para detectar la presencia de anticuerpos en suero sanguíneo, lo que permite el diagnóstico de enfermedades infecciosas virales, como

la hepatitis y el VIH, que pueden afectar a los pacientes y comprometer su estado inmunológico.⁷

5. Biología molecular

La biología molecular ofrece herramientas avanzadas para el diagnóstico clínico y monitoreo de enfermedades virales. La detección y cuantificación específica del material genético en muestras biológicas ha tenido un impacto significativo en todos los ámbitos de la salud, especialmente en enfermedades infecciosas y cáncer. Mediante técnicas como la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) se puede detectar la presencia de ADN o ARN viral, el cual es necesario para el seguimiento y control de pacientes inmunosuprimidos.

El desarrollo de nuevas tecnologías, más rápidas y precisas, ha transformado al diagnóstico molecular en una herramienta clave para el equipo clínico en directo beneficio del paciente.⁸

6. Postanalítica

En la etapa postanalítica se incluye la validación de los resultados, la retención y almacenamiento del material clínico, y el desecho de la muestra.

Los resultados de cada prueba se deben comunicar de manera precisa y clara, evitando cualquier tipo de ambigüedad y siguiendo las instrucciones específicas de los procedimientos analíticos. El laboratorio tiene la responsabilidad de determinar el formato del informe de laboratorio y la forma de comunicarlo.⁹

Cuando los resultados de los análisis se encuentran dentro de los intervalos alarmantes establecidos: se debe avisar inmediatamente a un médico (u otro profesional sanitario autorizado).⁹

En el laboratorio se implementa un sistema para la notificación y selección automatizada de los resultados del análisis. En el cual se establece un procedimiento documentando con los criterios de selección y notificación.⁹

Objetivos.

- Objetivo General:

Detallar exhaustivamente el procedimiento llevado a cabo en las distintas secciones del laboratorio bioquímico en relación con pacientes que ingresan con

trastornos hematológicos en proceso de trasplante de médula ósea, desde la fase preanalítica hasta la postanalítica.

- **Objetivos Específicos:**

1. Describir el proceso de atención al paciente desde su ingreso al laboratorio hasta la entrega de resultados.
2. Analizar la importancia de la calidad en la fase preanalítica, incluyendo la correcta recolección, identificación y transporte de muestras.
3. Detallar las actividades realizadas en cada área del laboratorio (hematología, química, microbiología, biología molecular) para el diagnóstico y seguimiento pacientes en plan de trasplante.
4. Discutir la importancia de la comunicación interdisciplinaria y el cumplimiento de normativas para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados analíticos.

Resultados.

Se procede a describir el enfoque adoptado en las distintas áreas del laboratorio en relación a pacientes en proceso de trasplante y post-trasplante, destacando las determinaciones clínicas relevantes y generalizando los posibles resultados que pueden observarse.

ÁREA PREANALÍTICA

Desde el laboratorio se busca realizar una adecuada atención al paciente desde el ingreso del mismo hasta la entrega de informes. Basándose en las normas correspondientes (NAE-SBLab 310 y NAE-SBLab 209).¹⁰

Las muestras obtenidas por el personal del laboratorio, ya sean de sangre venosa o arterial, deben estar en tubos tapados y rotulados, y se colocan en gradillas en posición vertical.

Según el análisis a realizar, se deben utilizar diversos tubos específicos para cada determinación:

- QUÍMICA: plasma heparinizado o tubo con gel.
- HEMATOLOGÍA: tubo con EDTA.
- COAGULACIÓN: tubo con citrato.
- INMUNOLOGÍA y ENDOCRINOLOGÍA: tubo con gel.

→ MARCADORES TUMORALES y VIROLOGÍA: tubo con gel.¹¹

La toma de las distintas muestras microbiológicas deben realizarse bajo las normas correspondientes del sanatorio respetando la bioseguridad contemplada en ella.¹²

Todas las muestras que llegan al laboratorio son dirigidas al sector: "Procesamiento de muestras". Allí se procede a etiquetarlas con códigos de barra, las cuales reciben un número único que se genera en el sistema de pedidos Datatech (sistema utilizado en todo el sanatorio). Este número representa en el sistema el nombre del paciente, tipo de muestra y fecha. Con la etiqueta correspondiente se colocan en sus respectivos contenedores para comenzar con todos los procedimientos necesarios.¹³

ÁREA HEMATOLOGÍA

En los pacientes en proceso de trasplante se realiza el seguimiento con el hemograma, presentando alteraciones principalmente en la Hb (niveles bajos según valor de referencia) y en la fórmula leucocitaria con presencia de elementos inmaduros en sangre periférica.

En los pacientes post trasplante el seguimiento se realiza con el hemograma y recuento de reticulocitos. En un tratamiento exitoso, el hemograma comienza a normalizarse, y los reticulocitos aumentan, lo cual indica una mejoría en la función de la médula ósea.

Se utilizan equipos automatizados como Sysmex XN 1000-Roche utilizando la metodología de Citometría de flujo fluorescente para la identificación de las células perteneciente al hemograma e identificación de reticulocitos. Además se cuenta con otro contador hematológico CELL-DYN Ruby de Abbott el cual utiliza tecnología óptica. De ser necesario, se realizan las repeticiones y tinciones de extendidos de sangre periférica que se requieran.¹⁴

También, en el laboratorio de manera automatizada se realiza la velocidad de eritrosedimentación en el equipo CUBE 30 touch, y los tiempos y factores de coagulación (TP, KPTT, Fibrinogeno) realizados en el analizador automatizado SYSMEX CA-500. Estos estudios son realizados en casos particulares que el médico crea necesario, no son de rutina.

Dentro de la norma NAE-SBLab 210 se describe de manera detallada cómo realizar los controles de calidad, calibración de los equipos y el procesamiento de las muestras.

AREA MICROBIOLOGIA

Dentro del laboratorio de microbiología se realizan diversos análisis previos y posteriores al trasplante de médula ósea.

Como análisis previos de rutina se realizan análisis parasitológicos, hisopados nasales y anales en búsqueda de portación de microorganismos colonizantes, posibles patógenos oportunistas, importantes en el momento de la inmunosupresión del paciente. Como agentes colonizantes de piel y mucosas se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Enterococcus spp*, bacilos multirresistentes como *Escherichia coli* y *Klebsiella spp*. En caso de que el paciente sea portador, no puede ingresar al área de trasplante y el médico debe tratarlo.

En pacientes post-trasplante se continúa el seguimiento de manera semanal de portación de microorganismos en hisopados anales para prevenir posibles infecciones por los colonizantes mencionados anteriormente.

Además, en el caso de que el paciente presente sintomatología, como diarrea, el médico ordenará la realización de coprocultivos, pruebas para detectar toxina de *C. difficile* y exámenes parasitológicos. Si el paciente presenta fiebre, se realizan de manera rutinaria hemocultivos, urocultivos y detección de COVID-19, en épocas estacionales como en invierno, se incluirá la detección del virus de la influenza A y B, así como, de acuerdo con la epidemiología local, la evaluación para el virus del dengue. Estos estudios son fundamentales para identificar posibles agentes patógenos que puedan estar causando la infección y para orientar el tratamiento adecuado.

Para la detección de toxina de *C. difficile*, COVID-19, dengue, Influenza A y B se realizan tests rápidos utilizando la metodología de inmunocromatografía.

Para el procesamiento de las demás muestras y dependiendo del microorganismo que se busca, se lleva a cabo un protocolo de análisis específico siguiendo las normas del laboratorio.¹⁵

ÁREA QUÍMICA/INMUNOQUÍMICA

En pacientes en proceso de trasplante, se pueden realizar pruebas específicas para evaluar la función hepática, renal y metabólica, así como la presencia de marcadores tumorales o metabolitos alterados asociados con ciertas enfermedades. Se realizan en analizadores automatizados ARCHITECT i1000 de Abbott.

Además de la química, se realizan otras determinaciones:

- Monitorización farmacocinética de inmunosupresores con el fin de determinar la concentración de la droga en sangre entera de tal manera que los médicos puedan ajustar la dosis para que esté dentro del rango terapéutico.

En el laboratorio se emplea el ensayo ARCHITECT Tacrolimus, es un inmunoanálisis retardado de un paso para la determinación cuantitativa en sangre que utiliza la tecnología CMIA con protocolos de ensayos flexibles, denominados Chemiflex. El procedimiento se describe de manera detallada en la norma NAE-SBLab 231, al igual que la calibración y control de calidad.¹⁶

El tacrolimus es un fármaco inmunosupresor que es utilizado en el tratamiento del rechazo de órganos tras un trasplante.¹⁷

- Detecciones serológicas de infecciones virales:
 - Hepatitis B anticuerpos anti-core total
 - Hepatitis B antígenos de superficie (HBsAg)
 - Hepatitis C anticuerpos (HCV-Ac)
 - HIV anticuerpos anti-HIV 1 y 2, p24

Se realizan en el equipo ARCHITECT i1000, por técnica de inmunoensayo.

Estas determinaciones serológicas se realizan de rutina pretrasplante.

ÁREA BIOLOGÍA MOLECULAR

En los pacientes antes del trasplante se realiza de rutina la detección de Citomegalovirus (CMV) y COVID-19 a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

- La detección de COVID-19 con el kit TaqPath™ COVID-19 RT-PCR.
- La detección y cuantificación de CMV de manera automatizada por medio de la utilización de The AltonaStar® CMV PCR Kit 1.5, que es un test diagnóstico in-vitro, basado en tecnología real-time PCR, utilizando ADN plasma humano, donde se detectara y cuantificara ADN específico de CMV. Este procedimiento es llevado a cabo por dos equipos diferentes, uno específico para purificación, extracción y preparación de las placas de PCR del ADN y otro, un termociclador, donde se realizará la amplificación del mismo.¹⁸

La detección de CMV es importante porque produce infecciones latentes con recurrencias periódicas que durante la inmunosupresión pueden adquirir un carácter grave, por lo tanto a estos pacientes se les realiza un seguimiento semanal. De esta manera frente a

un aumento de carga viral, la misma será detectada a tiempo y el paciente puede recibir el correspondiente tratamiento.¹⁹

A diferencia de los seguimientos anteriores, los virus de INFLUENZA A y B, son buscados únicamente frente a síntomas. La detección se realiza con el kit AltoStar® Influenza Screen & Type RT-PCR Kit 1.5 correspondientes al virus a detectar.

POSTANALÍTICA

En cuanto al análisis y validación de resultados, todo resultado obtenido pasa por dos fases de validación, técnica y clínica antes de ser informado.

Una primera validación es la validación técnica y se efectúa cuando los analizadores obtienen los resultados, en caso de que se haga manual esta primera validación no se realiza. Una segunda validación es la fisiopatológica y se efectúa cuando el profesional bioquímico evalúa el informe global y decide sobre su emisión o rechazo. Para este último punto se debe tener en cuenta lo siguiente: concordancia con el diagnóstico, motivo de consulta o síntoma guía, congruencia con otros resultados del mismo informe, concordancia con los resultados históricos del paciente, relación con los datos demográficos y procedencia.¹⁴

Una vez analizada la muestra, informada y validada se debe almacenar siguiendo la norma NAE-SBLab 010, la cual explica detalladamente el guardado y conservación de cada tipo de muestra.

Los resultados validados se cargan automáticamente en el sistema DATATECH, donde están disponibles para la visualización por parte de los médicos. Además, se facilita una comunicación directa entre médicos y bioquímicos para discutir los resultados y tomar decisiones clínicas pertinentes.

Conclusión.

El trabajo presentado detalla exhaustivamente el proceso llevado a cabo en el laboratorio bioquímico del Sanatorio Británico en relación con pacientes que ingresan con trastornos hematológicos, desde la fase preanalítica hasta la postanalítica, abarcando áreas como microbiología, hematología, química e inmunoquímica, y biología molecular.

El enfoque multidisciplinario y riguroso presentado refleja el compromiso de la institución con la calidad de la atención bioquímica, basada en evidencia científica y en el respeto por la ética y la dignidad de los pacientes. Se destaca la importancia de la

comunicación interdisciplinaria y el seguimiento de normativas y protocolos específicos para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados.

Perspectivas.

Consideramos que sería de utilidad el análisis de virus como dengue e influenza A y B por metodologías moleculares, previos al ingreso de los pacientes al área de trasplante, ya que los mismos pueden ser asintomáticos.

Si bien se destacó la comunicación interdisciplinaria, se recomienda realizar reuniones formalizadas de manera regular con el personal de salud.

Bibliografía.

1. Duarte, Mónica. (2012). Trasplante autólogo de médula ósea. *Acta Medica Colombiana*, 37(4), 165-171. Retrieved April 27, 2024, recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-2448201200040001&lng=en&tlng=es.
2. Apunte de leucemias de cátedra hematología de la facultad de Cs. Bioquímica y Farmacéutica UNR.
3. Pérez-Zúñiga, J. M., & col. (2018). Generalidades sobre linfomas. *Revista Hematología Mexicana*, 19(4), 174-188 recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2018/re184c.pdf>
4. International Organization for Standardization. (2012). *ISO 15189:2012 Medical laboratories*. (Sección 5.4)
5. Becker K., Ana. (2001). Interpretación del hemograma. *Revista chilena de pediatría*, 72(5), 460-465 recuperado de https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0370-41062001000500012&script=sci_arttext
6. Juan Carlos Aladosa, M.J.. María Jesús Alcarazb, Ana Isabel Allerc, Consuelo Mirandad, J.L.. José Luis Péreze, Patricia A. Romerof. Diseño de un laboratorio de microbiología clínica. *Elsevier*, 28(7), 453-460 recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-diseno-un-laboratorio-microbiologia-clinica-S0213005X0900408X>
7. Gabriela Olay Fuentes, Pablo Díaz Piedra, Ricardo Hernández Gómez, R Daniel Cervantes-Villagrana, José Miguel Presno-Bernal, Luz Elena Alcántara Gómez. (2013). La actualización en Patología Clínica y los próximos Congresos en México. *Rev Latinoamer Patología Clínica*, 60(1), 43 recuperado de https://www.medigraphic.com/suscriptores/pt131_completo.pdf#page=44
8. BQ. MAURICIO J. Farfán, *Revista Médica Clínica Las Condes*. (2015). Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(6), 788-793 recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864015001546>
9. International Organization for Standardization. (2012). *ISO 15189:2012 Medical laboratories*. (Sección 5.7-5.8)

10. "Protocolo De Atención De Pacientes Ambulatorios" NAE-SBLab 310 , "Remisión Interna De Muestras Para Procesar En El Laboratorio Clínico" NAE-SBLab 209.
11. "Norma Activa Para La Obtención Y Manipulación De Muestras De Sangre" NAE SBLab011.
12. "Bioseguridad De La Etapa Preanalítica En El Laboratorio De Microbiología" NAE-SBLab 102, "Toma De Muestra: Hemocultivos" NAE-SBLab 144.
13. "Circuito de siembra de los materiales clínicos" NAE-SBLab 105.
14. "Uso De Contadores Hematológicos En El Área Hematología" NAE-SBLab 210.
15. "Procesamiento:Hemocultivos Y Retrocultivos" NAE-SBLab 125, "Procesamiento de urocultivo" NAE-SBLab 126, "Procesamiento de coprocultivo" NAE-SBLab 127, "Procesamiento de hisopados" NAE-SBLab 134, "Procesamiento de hisopados nasofaríngeos para investigación de Sars-Cov-2 por métodos moleculares. Informe de los resultados" NAE-SbLab 137, "Hisopado anal semanal en unidad de terapia intensiva" NAE 052.
16. "Procedimiento para el dosaje de tacrolimus FK506" NAE-SBLab 231.
17. Abbott Core Laboratory. (s.f.). Tacrolimus assays. Recuperado de <https://www.corelaboratory.abbott/int/es/offerings/assays/tacrolimus.html>
18. Altona Diagnostics. (2023). AltonaStar® CMV PCR Kit 1.5: Manual de usuario. Recuperado de https://altona-diagnostics.com/wp-content/uploads/2023/12/AS-CMV-1.5_MAN-ASO021540-EN-S01_WEB.pdf
19. Diaz Martínez, Ana Gloria, Valdés Abreu, Manuela de la Caridad, & Resik Aguirre, Sonia. (1998). Infecciones por citomegalovirus. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(3), 270-278. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251998000300012&lng=es&tlng=es.

Alumna: Fornari, Milena; Domenech, Milagros

Tutor Académico: Rinaudo, Mariángel

Lugar de realización: Sanatorio Británico

Póster



Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29360>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



Trabajo Final Práctica Profesional Obligatoria

INCIDENCIA DE SÍFILIS EN UNA POBLACIÓN DE DONANTES DE SANGRE

Autoras: Domenech, Milagros, Fornari, Milena.

Tutoras: Bioq. Carolina Martinez, Bioq. Mariángel Rinaudo

Institución de rotación: Sanatorio Británico.

PRESENTACIÓN

Durante nuestro paso por las Prácticas Profesionales Obligatorias en el Sanatorio Británico, específicamente en el área de Serología perteneciente a Hemo Región Centro, cuya labor se basa en el análisis y consiguiente aprobación de unidades de sangre donadas destinadas al uso médico, nos asombró el gran número de pruebas positivas para VDRL (Venereal Disease Reference Laboratory) , la cual sirve de screening para la detección de sífilis.

El abordaje de este tema surge de la necesidad de ampliar la información sobre esta problemática, no sólo en relación con la enfermedad en sí, sino también para reducir la cantidad de unidades de sangre rechazadas en los bancos de sangre.

MARCO TEÓRICO

En base a la problemática planteada, apuntaremos al desarrollo de los siguientes tópicos:

- Sífilis
- Pruebas para la detección de Sífilis
- Banco de sangre

SÍFILIS

La sífilis es una enfermedad infecciosa curable con afectación sistémica causada por el microorganismo *Treponema pallidum*, bacteria gram negativa con forma helicoidal característica (espiroqueta), en donde la principal vía de transmisión es a través del contacto sexual. Aunque también puede adquirirse de forma congénita a través de la placenta, por transfusión de sangre humana contaminada y por inoculación accidental directa.

PATOGENIA

T. pallidum es capaz de penetrar en el organismo a través de las membranas mucosas intactas o a través de heridas en la piel. El microorganismo se disemina por el cuerpo humano a través de los vasos linfáticos o sanguíneos.

Clínicamente, la sífilis se divide en distintas etapas: sífilis primaria, secundaria y terciaria.

Existe un período de **incubación** que es de tres semanas aproximadamente.

La **fase primaria** consiste en el desarrollo de la primera lesión en la piel o mucosas, que comienza como pápula y luego progresa a chancro el cual aparece en el lugar de inoculación, pudiendo ser único o múltiple en inmunosuprimidos. Los genitales externos son los lugares más frecuentes donde aparecen, seguidos por el cuello uterino, boca, área perianal, etc. El chancro cura al cabo de tres a seis semanas, sin lesión residual mientras que la adenopatía persiste un poco más.

La **fase secundaria** comienza al cabo de 2 a 12 semanas después del contacto, y representa el estadio clínico más florido de la infección. Se caracteriza por presentar manifestaciones variadas siendo la más frecuente, el exantema maculo-papular o pustular de localización en palmas de mano y plantas del pie. Dentro de la fase secundaria, destacamos una fase latente en donde el paciente no presenta manifestaciones clínicas pero sin embargo las pruebas antitreponémicas pueden ser positivas.

En **sífilis terciaria** se produce la destrucción de los tejidos. Aparece de 10 a 25 años después de la infección inicial en pacientes no tratados. Las complicaciones se presentan con enfermedades del SNC llegando a producir Neurosífilis; anomalías cardiovasculares; patologías oculares y lesiones similares a granulomas, denominadas gomas sífilíticas (son infiltrados de monocitos junto a destrucción tisular) en donde el área más afectada es el paladar.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Detección directa de *T. pallidum*:

Examen en fresco con microscopía de campo oscuro: Es el método diagnóstico más rápido en donde la muestra ideal es el exudado de las lesiones como el chancro, o lesiones de mucosas, ya que contienen gran cantidad de treponemas; también pueden observarse a partir del material aspirado de los ganglios linfáticos en donde el treponema aparecerá moviéndose en espiral con una ondulación característica sobre su punto medio.

Técnicas de Biología Molecular: Estas son técnicas que aumentan la sensibilidad de detección, siendo importantes para excluir el periodo ventana o utilizarse en sífilis congénita, Neurosífilis, en sífilis primaria temprana o cuando existe la necesidad de distinguir entre una reinfección y una infección antigua.

Detección indirecta de *T. pallidum*: pruebas serológicas

Pruebas no treponémicas: detectan anticuerpos reagínicos que son producidos por pacientes infectados por *T. pallidum*. Es una prueba de floculación (o aglutinación) siendo la VDRL la más utilizada, puede hacerse de manera cualitativa y semicuantitativa.

Se realiza en una placa de vidrio colocando un reactivo A (suspensión acuosa de antígeno de cardiolipina y lecitina purificados, en buffer fosfatos con cloruro de colina y EDTA) junto con una gota de muestra de suero del paciente. Es importante siempre realizar un control positivo para poder comparar, la cual consiste en una muestra de donante reactiva. Luego de 2 minutos en el agitador se debe mirar la placa en un transiluminador y observar la presencia de floculación, interpretando como POSITIVA la reacción.

Para la VDRL semicuantitativa se hacen diluciones del suero (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 con solución fisiológica), el título estará dado por la inversa de la dilución y es importante para el seguimiento una vez establecido el tratamiento.

Pruebas treponémicas: el suero se absorbe primero con Antígenos treponémicos no *T. pallidum* para disminuir las reacciones cruzadas inespecíficas. Luego se aplica el reactivo compuesto por Anticuerpos a-humanos conjugados con fluoresceína como marcador para los Ac a-treponémicos presentes en el suero del paciente.

Objetivos

- Describir el procedimiento de detección de Sífilis en unidades de sangre donadas en Banco de Sangre.
- Describir el procedimiento en un laboratorio clínico ante el pedido de detección de Sífilis.
- Comparar ambos procedimientos.

BANCO DE SANGRE

El banco de sangre es una unidad hospitalaria que se encarga de recolectar y almacenar los componentes sanguíneos, realizar pruebas pretransfusionales y garantizar transfusiones seguras.

Hemo Región Centro es el establecimiento donde obtuvimos los datos plasmados en el presente trabajo, esta entidad se encuentra dentro de las instalaciones del Sanatorio Británico donde funciona de forma independiente. Este comprende los siguientes efectores: **Sanatorio Británico; Sanatorio Americano; Hospital Español; Banco de sangre Gorla Hemocentro Regional y Grupo Stem.**

Ante la llegada del donante, estos servicios mencionados, realizan la recolección de bolsas de sangre y tubos para su posterior análisis (2 tubos secos para la Serología y uno con EDTA para Biología Molecular).

Las bolsas de sangre son luego procesadas para obtener: Plasma; Plaquetas; Concentrado de hematíes y Crioprecipitado.

Los sueros obtenidos en esta etapa, son transportados bajo refrigeración hacia la institución donde se realizan las distintas determinaciones. Una vez aquí, se comienza con el ingreso al Sistema Informático, y luego se procesan las mismas de dos maneras diferentes.

1- **Etapla automatizada**, el equipamiento con el que cuenta el Hemo Región Centro: ARCHITEC.

Este equipo utiliza el método de quimioluminiscencia en la cual detecta: a-HCV; a-HTLV; a-HBc; HBsAg; HIV combo (Ac/Ag p24) y a-Cha.

2- **Etapla manual**, se realizan los siguientes ensayos:

- Detección de Anticuerpos Anti-*Trypanosoma Cruzi* por ELISA.
- Detección de Anticuerpos Anti-*Brucella Abortus* por método HUDDLESON.
- Detección Anticuerpos-*Treponema pallidum* por método VDRL.

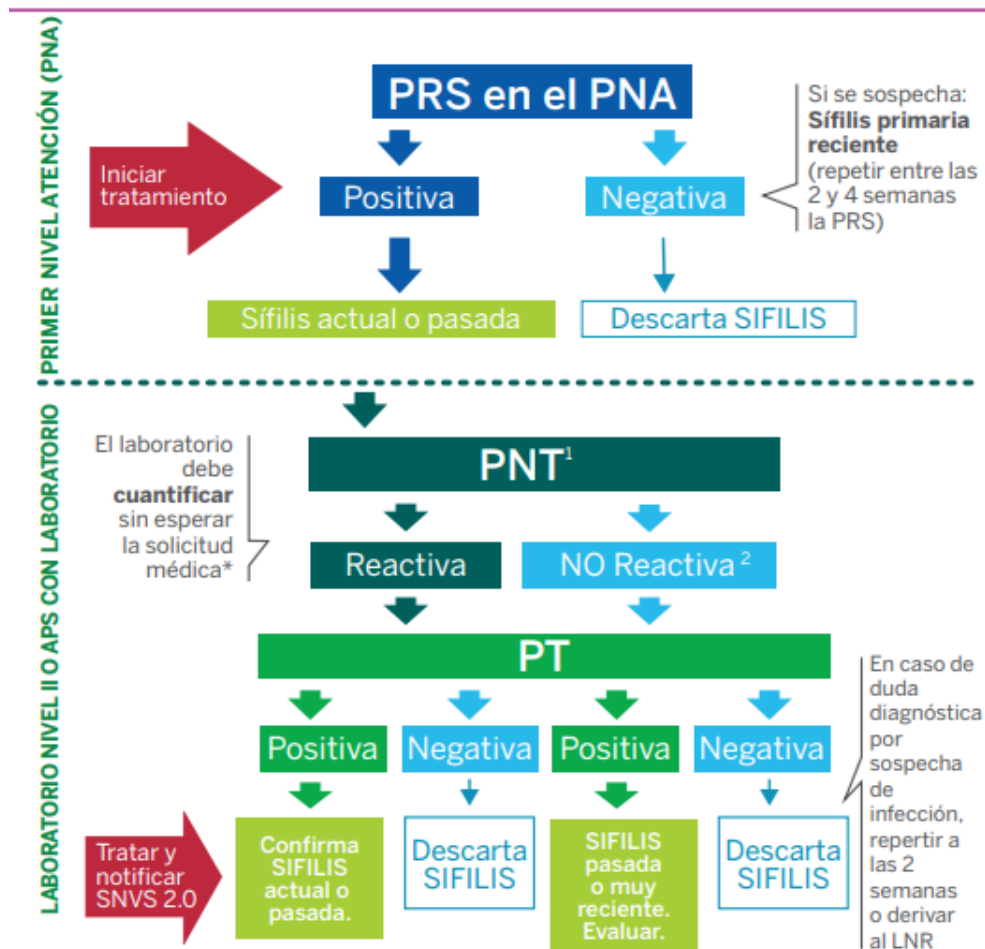
Ante una prueba VDRL positiva, se solicita tubuladura de la unidad correspondiente para corroborar que efectivamente la muestra procesada corresponda a la unidad y en caso de que ésta también sea positiva, se solicita nueva muestra al donante para verificar los resultados obtenidos. Mientras tanto, esta es retirada del sistema hasta que se haya confirmado si la misma es apta o no para su uso. Si durante esta tercera instancia la muestra presenta nuevamente valores positivos en la VDRL, se informa al efector correspondiente y es luego el médico quien resuelve esta tarea.

¿Qué pasa si un donante presenta anticuerpos anti-*T. Pallidum*, ¿Es posible que esta unidad sea aceptada?

Según lo establecido en la ley Nacional del manejo de componentes sanguíneos, hasta que la VDRL no se negativice, la unidad donada no puede ser aceptada ya que se considera que la infección todavía es reciente.

Haciendo hincapié en los objetivos planteados al principio, ahora nos centraremos en abordar el procedimiento llevado a cabo ante un pedido de detección de sífilis realizado en laboratorios de rutina.

En primer lugar, el paciente recurre al médico, el cual detalla la orden médica para la detección de dicha enfermedad. En el laboratorio una vez obtenida la muestra ya sea de raspado de úlcera o extracción sanguínea se sigue el algoritmo diagnóstico planteado en la guía para la utilización de pruebas rápidas de sífilis.



Algoritmo obtenido de: Guía para la utilización de pruebas rápidas de sífilis

- *PRS*: Pruebas rápidas de Sífilis.
- *PNA*: Primer nivel de atención.
- *PNT'*: Prueba no treponémica.
- *PT*: Prueba treponémica.
- *SNVS 2.0*: Sistema Nacional de vigilancia de salud.

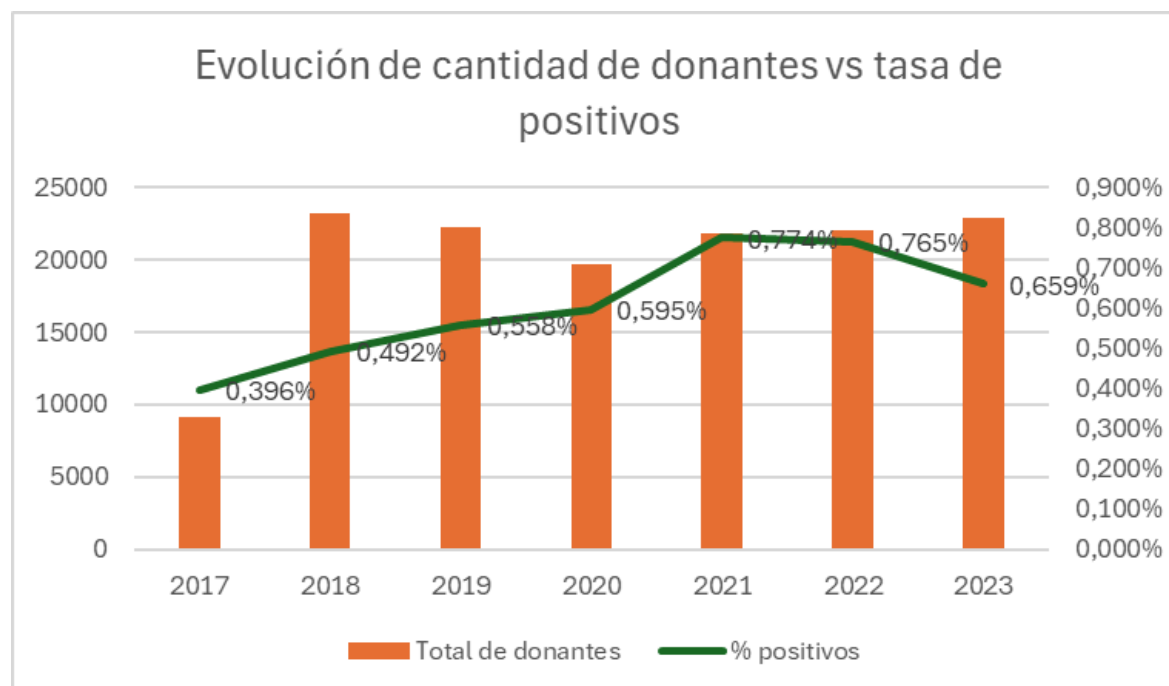
Tal como puede observarse, el procedimiento en ambos casos utiliza la prueba VDRL aunque es necesario agregar otros ensayos cuando se trata de llegar a un diagnóstico definitivo y así comenzar con el tratamiento de la enfermedad.

RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ÁREA DE SEROLOGÍA

Se analizó un total de 140.994 donantes desde 10/2017 al 12/2023 procedentes de los servicios anteriormente nombrados:

Año	Donantes positivos	Total de donantes por año	% de positivos
2017	36	9091	0,396%
2018	114	23180	0,492%
2019	124	22227	0,558%
2020	117	19668	0,595%
2021	169	21830	0,774%
2022	169	22083	0,765%
2023	151	22915	0,659%

Tabla 1: Datos proporcionados por Hemo Región Centro



Gráfica construída en base a Tabla 1

CONCLUSIÓN

En base a los datos obtenidos, se puede evidenciar cómo dicha enfermedad ha aumentado su incidencia en los últimos años pero no de forma lineal, observándose un leve incremento en 2020-2021 que coincide con la reciente pandemia. También, se visualiza una leve disminución en 2022-2023.

Con lo que respecta al año 2024, durante nuestro paso por las Prácticas Profesionales Obligatorias y hasta el momento, se procesaron 6246 muestras de las cuales 40 fueron VDRL positivas. Esto corresponde a una tasa de incidencia del 0,640% que si bien aún no podemos concluir porque el año sigue en pie, con esa cifra puede que la incidencia siga siendo similar a la de los últimos dos años.

PERSPECTIVAS

Como futuros profesionales de la salud, y a través del presente trabajo, queremos expresar nuestra preocupación sobre esta temática, informar sobre los daños que produce esta enfermedad y dar a conocer cuales son las pautas de prevención ya que asumimos que la mayoría de las personas con sífilis no tiene conocimiento sobre sus formas de transmisión. Recomendamos el uso de protección en cada encuentro sexual ya que es el único método anticonceptivo capaz de reducir el riesgo a contraer enfermedades de transmisión sexual y también es de suma importancia la realización de exámenes periódicos ya que si es detectada a tiempo, con tratamiento es curable.

Para finalizar, nos gustaría referirnos sobre la población donante, la cual fue el objetivo primordial de nuestro trabajo. Los datos obtenidos son referidos a esta pequeña proporción de la población a la cual se le hace firmar una serie de documentos en la que se especifica ser “aptos” para realizar una donación segura y al encontrarnos con esta incidencia de positivos en los últimos años, **sobre todo en el contexto de pandemia**, , hemos decidido indagar sobre el tema justamente para poder revertir esta condición y minimizar la cantidad de rechazos, ya que la donación de sangre es un acto que puede salvar vidas. Nos gustaría remarcar el reciente descenso de VDRL positivos en los últimos años (2022-2023) los cuales creemos que pueden deberse a la cantidad de campañas de concientización y detección de Sífilis que existen hoy en día, sumado a la educación sexual recibida en las escuelas.

BIBLIOGRAFÍA

LARSEN SA. La sífilis en el momento actual. En: Picazo JJ, Bouza E (eds). Infección 1999. Servisistem 2000 SL, Bilbao, 1999, pp 177-216.

García, J., Pérez, M., & López, R. (2019). Estudio sobre la prevalencia de infecciones bacterianas en pacientes adultos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(3), 123-130.

TRAMONT EC. Treponema pallidum (Syphilis). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and practice of infectious diseases (4ª ed). Churchill Livingstone, New York, 1995, pp 2117-2133

Organización Mundial de la Salud, "El uso de las pruebas rápidas para sífilis", 2007.

Organización Panamericana de la Salud, "Orientación para el diagnóstico de la sífilis en América Latina y el Caribe: cómo mejorar la adopción, interpretación y calidad del diagnóstico en diferentes entornos clínicos", 2015

Argentina. (1983). Ley 22.990 de 1983: Ley de enfermedades de notificación obligatoria.

Ministerio de Salud de la Nación. "Sífilis." Ministerio de salud de la Nación, s.f.,

Ministerio de Salud de la Nación. "Donar Sangre." Ministerio de salud de la Nación, s.f.,

Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. (2024). Guía para el abordaje de la sífilis.

Arando Lasagabaster, M., & Otero Guerra, L. (2019). *Sífilis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(6), 398-404. DOI: 10.1016/j.eimc.2018.12.009.

TF23

Alumna: Franco, María Celeste

Tutor Académico: Cerdan, María Celeste; Indelman, Paula

Lugar de realización: Hospital Juan Bautista Alberdi

Póster

"Paciente HIV positivo con múltiples enfermedades crónicas, recientemente diagnosticada con tuberculosis (TBC)"

Francisco, M. Celeste¹; Gueffé, Gabriela²; Parodi, Pedro³; Ross, Elena³; Indelman, Paula³; Cerdan, M. Celeste³

¹Facultad de Bioquímica y Farmacia, UNR; ²Hospital Juan Bautista Alberdi, Municipalidad de Rosario; ³Neu Parasitología, Facultad de Bioquímica y Farmacia, UNR.

INTRODUCCION

La característica principal de la infección con el virus del HIV es el deterioro funcional, constante y progresivo de los linfocitos T CD4+, con el consiguiente deterioro secundario de todo el sistema inmune celular. La inmunodeficiencia progresiva se manifiesta directa o indirectamente sobre las células inmunes, a través de la pérdida de estas generadas en el Tejido Linfático. Como consecuencia, se produce una infección por HIV mayor riesgo de desarrollar tuberculosis debido a que presentan un déficit en la respuesta inmune, a su vez, la inmunodeficiencia incrementa el riesgo de desarrollar de una infección tuberculosa latente. Por ello, cada vez es bastante frecuente la coexistencia entre ambas entidades patológicas. Además, la tuberculosis es la principal causa infecciosa de muerte en pacientes con HIV.

CASO CLINICO

Mejor de 44 años en situación de calle, presenta un caso clínico complejo y multifactorial, las principales condiciones médicas incluyen: Chagas positivo, hepatitis C (VHC), VIH, positivo, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en tratamiento con triple terapia antirretroviral, presencia de un perfil mental, depresión, múltiples episodios de consumo de drogas, antecedentes de infecciones diagnosticadas de tuberculosis (TBC).

Además, narra una serie de hechos de riesgo y antecedentes que incluyen consumo de sustancias como cocaína y marihuana, tabaquismo y un historial de consumo excesivo de alcohol. Debido a esto y a la falta de apoyo de los familiares, los ingresos y egresos a la guardia del Hospital Juan Bautista Alberdi se tornaron frecuentes lo que generó una falta de continuidad en el tratamiento de la paciente en sus múltiples causas médicas.

Determinación	15/3	16/3	15/3	16/3	22/3	25/3	4/4	6/4	12/4
CD4 (cel/mm3)	210	250	170	460	640	420	410	530	560
CD4 (%)	2,87	3,25	3,41	4,07	4,17	4,97	3,89	4,09	4,59
HTO (%)	18,7	22,8	25,4	29,5	32,9	33,4	32,6	35,6	39,7
Hb (g/dl)	8,9	6,5	7,2	8,1	8,8	9,3	9,6	10,4	11,9
Forma	Normocítica Normocromica								
Leucocitos	154/132/63/131/187/133/163/124/163/148/142/154/133/159/130/160/136								
Plaquetas	244/229/253/266/175/144/256/193/194								
Urea (mg/dl)	125/66/72/81/81/104/96/89								
Ureemia (mg/dl)	43								
Creatinina (mg/dl)	0,4/0,47/0,45/0,57/0,62/0,64/0,6/0,58/0,63								

Tabla 1. DETERMINACIONES LABORATORIAS

OTROS RESULTADOS

- Cultivo de orina B.A.A.R
- Resultado: NEGATIVO
- Detección de antígeno de plaquetarior para investigación de *Histoplasma capsulatum* en orina (Método: antígeno inmunoenzimático)
- Resultado: NEGATIVO
- Resultado vaginal bacteriológico y micológico
- Resultado: NEGATIVO
- CUANTIFICACION DEL ARN DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1)
- Resultado: 92900 Copias/mL
- Log: 6 log

Determinación	15/3	16/3	15/3	16/3	22/3	25/3	4/4	6/4	12/4
CD4 (cel/mm3)	210	250	170	460	640	420	410	530	560
CD4 (%)	2,87	3,25	3,41	4,07	4,17	4,97	3,89	4,09	4,59
HTO (%)	18,7	22,8	25,4	29,5	32,9	33,4	32,6	35,6	39,7
Hb (g/dl)	8,9	6,5	7,2	8,1	8,8	9,3	9,6	10,4	11,9
Forma	Normocítica Normocromica								
Leucocitos	154/132/63/131/187/133/163/124/163/148/142/154/133/159/130/160/136								
Plaquetas	244/229/253/266/175/144/256/193/194								
Urea (mg/dl)	125/66/72/81/81/104/96/89								
Ureemia (mg/dl)	43								
Creatinina (mg/dl)	0,4/0,47/0,45/0,57/0,62/0,64/0,6/0,58/0,63								

Tabla 2. DETERMINACIONES LABORATORIO SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Metodos bacteriológicos realizados para identificar el agente causal

- Bacteriología Ziehl Neelsen: muestra serada de esputo.
- Resultado: NEGATIVO
- Cultivos ácido y rápido (BACTEC MGIT 290): material esputo.
- Resultado: POSITIVO

Fig. 1 Bacteriología Ziehl Neelsen

Fig. 2 BACTEC MGIT 290

Fig. 3 Bactec

CONCLUSIONES

El diagnóstico de HIV y tuberculosis en esta paciente otorga una complejidad significativa a su caso clínico. Ambas enfermedades requieren un manejo cuidadoso y continuo. Para el HIV, es crucial que la paciente continúe su tratamiento con la triple terapia antirretroviral. Esto ayudará a prevenir la progresión del HIV a SIDA y reducirá el riesgo de aparición de enfermedades oportunistas y infecciones graves del sistema inmunológico.

En cuanto a la tuberculosis, el tratamiento antituberculoso estándar es fundamental para controlar la infección y prevenir su propagación. También, es importante que la paciente sea adherente al tratamiento, ya que la interrupción puede llevar a la resistencia a los medicamentos y complicar aún más su condición.

Dado que la paciente se encuentra en situación de calle y presenta problemas psiquiátricos, es fundamental coordinar con servicios de salud comunitarios, albergues y programas de asistencia social para asegurar que la paciente tenga acceso a un entorno estable que le permita seguir su tratamiento adecuadamente.

A partir de los datos aportados a lo largo del caso clínico, se considera que hubiera sido oportuno solicitar los siguientes estudios complementarios para seguimiento de la paciente:

- Nuevo radiografía de tórax
- Ureter
- Cultivo de orina para B.A.A.R
- Hemocultivos micológicos para histoplasmosis
- Cuantificación del ARN del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) y subpoblaciones linfocitarias para el seguimiento de su sistema inmune

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29358>

Monografía



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

ÁREA PRÁCTICAS PROFESIONALES OBLIGATORIAS

2024

Caso clínico

“Paciente HIV positivo con múltiples enfermedades crónicas, recientemente diagnosticada con tuberculosis (TBC)”

Tutores

- Cerdan María Celeste
- Indelman Paula

Autora

- Franco María Celeste

Institución

- Hospital Juan Bautista Alberdi de la ciudad de Rosario, Santa Fe.

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Mujer de 44 años en situación de calle, manifiesta una serie de condiciones médicas crónicas y agudas, así como factores de riesgo, antecedentes de salud mental y adicciones.

La paciente presenta un caso clínico complejo y multifactorial, las principales condiciones médicas incluyen, Chagas positivo, hepatitis C (VHC), infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en tratamiento con triple asociación farmacológica, presencia de un pólipo vesical, hematuria, síndrome anémico severo con requerimiento transfusional, y reciente diagnóstico de tuberculosis (TBC).

Además, reúne una serie de factores de riesgo y antecedentes que incluyen consumo de sustancias como cocaína y marihuana, tabaquista y un historial de consumo excesivo de alcohol. El manejo de la adicción en esta paciente es fundamental para su atención integral. Debido a esto, los ingresos y egresos frecuentes a la guardia del Hospital Juan Bautista Alberdi sugieren una falta de continuidad en el tratamiento de la paciente.

LABORATORIO Y CLÍNICA

Antecedentes personales

- Enfermedades del adulto:
 - Chagas desde la infancia
 - VHC
 - VIH en tratamiento con triple asociación farmacológica
- Quirúrgicos y traumatológicos: ligadura tubárica.
- Adicciones: cocaína inhalada/fumada, consumo de marihuana, tabaquista, ex etilista.
- Medicación habitual: Antirretroviral (TARV) (dolutegravir, tenofovir, lamivudina). Antipsicóticos (valproato de sodio 400mg cada 8 hs y levomepromazina 25 g día).
- Niega enfermedades de la infancia, antecedentes familiares y alergia.

Anamnesis por aparatos (13/03/24)

- Digestivo: pérdida de peso de tiempo incierto de evolución.
- Sistémico: sensación febril.
- Gineco-obstétrico: 1 embarazo ectópico / 1 hijo fallecido. Mioma uterino, quiste de ovario.
- Hematológico: Anemia con requerimiento transfusional.

Estudios complementarios

- ❖ **Rx tórax (13/03/24):** Levemente rotada, bien penetrada, bien inspirada, infiltrados difusos parahiliares bilaterales y basal derecho. FDS (Fondos de saco) libres, con ICT (Índice cardio-torácico) conservado.
- ❖ **Ecografía vesícula biliar (13/03/24):** vesícula de volumen conservado, paredes de grosor normal. En su interior se visualizan múltiples imágenes de litiasis de mediano tamaño que se movilizan tras los cambios de decúbito.
- ❖ **Ecografía abdominal - Vejiga (13/03/24):** se observa aumento de la mucosa en forma difusa destacando en piso una imagen ecogénica de 17mm por 14 mm sugestiva de pólipo.
- ❖ **Ecografía ginecológica (14/03/24):** Útero sin particularidades, ovario derecho: de tamaño y morfología conservados. Ovario izquierdo: no visualizado.
- ❖ **Rx tórax (03/04/24):** Completa, rotada, bien inspirada. Sin lesiones óseas, radiopacidad redondeada paracardiaca derecha. FDS libres. ICT: 0.59

En ecografía abdominopelviana de internación previa se evidencia a nivel vesical lesión ecogénica de 17 mm sugestiva de pólipo, se decide realización de uroTAC, no habiéndose podido realizar por fuga de la paciente, por lo que se decide reanudar solicitud de estudio por imagen de la paciente.

Laboratorios

Determinación	13/3	14/3	15/3	18/3	22/3	25/3	4/4	8/4	12/4
GB (mil/mm3)	5130	6980	5740	4660	4640	4310	4810	5530	5050
GR (millones/mm3)	2.87	3.25	3.61	4.07	4.17	4.27	3.89	4.09	4.59
HTO (%)	18.7	22.8	25.4	29.5	32.2	33.4	32.6	35.6	39.7
HB (g/dl)	4.9	6.5	7.2	8.1	8.8	9.3	9.6	10.4	11.9
Fórmula Leucocitaria	N64/L 24	N63/L 31	N57/L 33	N63/L 24	N33/L 56	N48/L 42	N54/L 33	N59/L 30	N60/L 26
Plaquetas (mil/mm3)	244	229	253	266	175	144	256	193	194
Glicemia (mg%)		125	66	72	81	81	104	96	89
Uremia (mg%)	43					25	40	36	27
Creatininemia (mg%)	0.4	0.47	0.45	0.57	0.62	0.64	0.6	0.58	0.63
TABLA 1: DETERMINACIONES LABORATORIOS									

- El estudio del medio interno con las determinaciones de Sodio, Cloro y Potasio, arrojaron resultados dentro de los valores normales.
- Hepatograma sin particularidades.
- VDRL: POSITIVO. Título: 1/4. - 30/01/24
- Esputo examen baciloscópico directo por tinción Ziehl Neelsen (Muestra N°1, N°2 Y N°3) - 14/03/24
Resultado: **NEGATIVO**
- Cultivo para B.A.A.R (Método fluorométrico automatizado) - 15/03/24
Material de estudio: Esputo
Resultado: **POSITIVO**
- Identificación Complejo *M. tuberculosis* (Método inmunoanálisis cromatográfico) - 15/03/24
Material de estudio: cultivo de esputo en medio líquido
Resultado: **POSITIVO**
- *Mycobacterium tuberculosis* y resistencia (PCR por método rápido - Genexpert ultra) - 15/03/24
Muestra: Suspensión bacteriana
M.tuberculosis: **DETECTADO**
Resistencia a rifampicina: **NO DETECTADO**
- Cultivo de orina B.A.A.R - 21/03/24
Resultado: **NEGATIVO**

- **Detección de antígeno de galactomanano para investigación de *Histoplasma capsulatum* en orina (Método: enzimoimmunoensayo) – 26/03/24**

Resultado: **NEGATIVO**

- **Exudado vaginal bacteriológico y micológico – 08/04/24**

Resultado: **NEGATIVO**

- **Orina completa (12/04/24)**

EXÁMEN FÍSICOQUÍMICO	EXÁMEN MICROSCÓPICO DEL SEDIMENTO
Color: Rojo Aspecto: Turbio Densidad: 1.015 pH: 6.5 Proteínas: Positivo Cuerpos cetónicos: Contiene (+) Hemoglobina: Contiene (++++) 	Campo cubierto de hematíes
TABLA 2: ORINA COMPLETA	

- **SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS - 15/04/24**

Linfocitos: 1613 Cél/ul

Descripción	%POS	CÚl/ul	RANGO ESPERADO %POS	RANGO ESPERADO CÚl/ul
CD4+	31.1	502	30.0 - 66.0	450 - 1800
CD8+	42.6	687	10.0 - 40.0	150 - 1000
CD3+	74.9	1209	60.0 - 90.0	800 - 2800
CD4/CD8	0.73			0.8 - 4.3
TABLA 3: DETERMINACIONES LABORATORIO SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS				

- **CUANTIFICACIÓN DEL ARN DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (VIH-1) - 15/04/24**

Resultado: **99200 Copias/mL**

Log: **5 logs**

Rango de medición: 20 - 10.000.000 Copias/mL (1.3 - 7.0 logs)

Límite de detección: 14 Copias/mL

MARCO TEÓRICO

En base a los datos de la paciente y su enfermedad actual, el caso clínico presentado en el trabajo final se orientó al desarrollo de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (TBC) y su detección en el laboratorio, debido a que es considerada la coinfección más común en personas VIH positivas.

El VIH incrementa el riesgo de reactivación de infección tuberculosa latente y acelera la progresión después de la infección o de la reinfección; por otra parte, la enfermedad tuberculosa agrava el pronóstico de los pacientes infectados por VIH. La característica principal de la infección con VIH es el deterioro funcional constante y progresivo de los linfocitos CD4+ tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, con el consiguiente deterioro secundario de todo el sistema inmune celular.

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana es un virus ARN monocatenario. Se transmite por la vía sexual, parenteral y vertical. La inmunodeficiencia progresiva es resultado directo de sus efectos sobre las células inmunes, e indirecto debido al estado generalizado de inflamación y activación inmune por la infección crónica. Las personas infectadas con VIH tienen mayor riesgo de desarrollar tuberculosis debido a que presentan un déficit en la inmunidad celular. Por ello, suele ser bastante frecuente la coinfección entre ambas entidades patológicas. Además, la tuberculosis es la principal causa infecciosa de muerte en pacientes con VIH.¹

La enfermedad causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* se adquiere por transmisión de persona a persona mediante microorganismos transportados por vía aérea a través de gotitas de Flügge (toser, estornudar, hablar).¹

Los hallazgos clínicos de la TBC en el paciente infectado con el VIH dependen de la severidad de la inmunodepresión. Las personas con niveles de linfocitos T CD4+ > 200/mm³ presentan síntomas similares al inmunocompetente: fiebre, tos, esputo purulento y pérdida de peso, y la TBC queda circunscripta al pulmón. En los individuos con recuentos por debajo de esa cifra es más frecuente el compromiso extrapulmonar y las formas diseminadas.²

La tuberculosis primaria es la forma clínica que aparece en una persona no sensibilizada y puede producir, a nivel de los pulmones, consolidación lobular, adenopatía hiliar y derrame pleural; mientras que la tuberculosis secundaria aparece en un anfitrión previamente sensibilizado, típicamente afectando los vértices superiores de

los lóbulos pulmonares y suele producir cavitación con posterior necrosis caseosa. Ambas formas clínicas pueden ser progresivas y diseminarse por vía hematógena, produciendo manifestaciones extrapulmonares.

El diagnóstico de tuberculosis se basa en una combinación de criterios clínicos, radiológicos, histopatológicos y de laboratorio. A continuación, se describen brevemente cada uno de estos aspectos³:

- **Clínico:** Incluye la evaluación de síntomas como tos persistente, fiebre, sudores nocturnos, pérdida de peso y fatiga.
- **Radiológico:** Generalmente se utiliza una radiografía de tórax para identificar signos de infección pulmonar, como infiltrados o cavidades en los pulmones.
- **Histopatológico:** El análisis de muestras de tejido (biopsias) puede revelar granulomas característicos de la tuberculosis.
- **Laboratorio:** Incluye pruebas de baciloscopias por Ziehl Neelsen o fluorescencia, cultivos sólidos y líquidos como también pruebas de detección molecular como la PCR.

El pilar fundamental del diagnóstico de tuberculosis (TBC) es la identificación del agente causal, que pertenece al Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Este complejo incluye varias especies, como *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis var BCG*, *M. canetti*, *M. africanum*, *M. pinnipedii*, *M. microti* y *M. mungi*.²

Las muestras para el análisis pueden ser de origen respiratorio, como esputo (normal o inducido), lavado bronquial y broncoalveolar, biopsias endoscópicas o quirúrgicas. También pueden ser de origen no respiratorio, como orina, líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre y médula ósea (especialmente en pacientes inmunodeprimidos), punciones aspirativas, biopsias de diferentes tejidos.²

El diagnóstico definitivo se basa en la detección del agente patógeno mediante técnicas bacteriológicas, que pueden incluir cultivos, observación microscópica de bacilos ácido-alcohol resistente, y pruebas moleculares específicas para el ADN de *Mycobacterium tuberculosis*.

Algoritmo diagnóstico de laboratorio de TBC

Métodos bacteriológicos realizados para identificar el agente causal

- **Baciloscopia Ziehl Neelsen:** examen microscópico de extendido de esputo. Esta tinción permite diferenciar a las bacterias en dos grupos: aquellos que son

capaces de resistir la decoloración con alcohol-ácido y aquellos que no lo son, teniendo un límite de detección de 5.000-10.000 bacilos/mL de muestra. Una tinción positiva es aquella en la que se observan bacilos ácido-alcohol resistente, los cuales son de color rojo fucsia.²

Interpretación de resultados:

- NEGATIVO: No se encuentran BAAR en 100 campos.
- POSITIVO (+): Entre 10 y 100 BAAR en 100 campos.
- POSITIVO (++) : De 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados.
- POSITIVO (+++) : Más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.

- **Baciloscopia por fluorescencia:** tinción con auramina-rodamina (Becton-Dickinson).³

Límite de detección: 1000 bacilos/mL

En todo paciente VIH (+) con síntomas respiratorios deben efectuarse al menos tres baciloscopias pudiendo ser positivas un 40-80% de los casos. El tener baciloscopias negativas no descarta TBC en estos pacientes. Es un método sencillo y económico pero su resultado se debe confirmar con cultivo.

- **Cultivo:** permite la identificación de género y especie a través de pruebas bioquímicas (catalasa, niacina y nitrato reductasa). En el diagnóstico de la TBC es conveniente contar con la identificación del complejo *M. tuberculosis* y una prueba de sensibilidad a R (rifampicina) o a H (isoniacida).²

Existen dos tipos de medio de cultivo

- **Cultivos sólidos:** El desarrollo es más lento (mínimo 20 días a partir de baciloscopias ++ o +++) pero puede visualizarse la morfología de las colonias. Se considera positivo un cultivo con más de 10 colonias, aunque los de menor número deben considerarse en el contexto clínico. Presenta una sensibilidad de un 70-80% y el tiempo de informe es a los 60 días. Los medios sólidos usualmente empleados son el Lowenstein Jensen y Stonebrink.²

Límite de detección: 10 - 100 UFC/mL

- **Cultivos líquidos:** permiten un desarrollo más rápido de las micobacterias (métodos rápidos) pero no se aprecia la morfología de las colonias.

Los métodos automatizados como el **BACTEC MGIT 960**, utilizan medio líquido y un revelado de desarrollo bacteriano por fluorescencia permitiendo en 10-13 días obtener resultados positivos. Los negativos se observan hasta 42 días. Además, se puede realizar sensibilidad o resistencia a rifampicina, isoniacida, pirazinamida.²

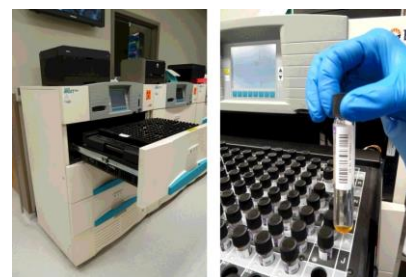


Foto 1: BACTEC MGIT 960

Límite de detección: < 10 UFC/mL

Técnicas de identificación a partir del cultivo positivo

- **Métodos inmunocromatográficos**

Son metodologías rápidas no basadas en la amplificación molecular. Detectan el antígeno MPT64, proteína excretada durante el crecimiento en cultivo específica del complejo *M. tuberculosis*.⁴

- **Métodos moleculares**

- **GeneXpert:** permite detectar simultáneamente genes específicos del complejo *M. tuberculosis* (MTBc) y resistencia a rifampicina por reacción de polimerasa en cadena (PCR) en tiempo real automatizado, en menos de tres horas. La prueba Xpert MTB/RIF entrega cuatro resultados semi-cuantitativos posibles, estableciendo los siguientes rangos: “Muy escasa cantidad” (CT > 28), “Escasa cantidad” (CT entre 22-28), “Moderada cantidad” (CT entre 16-22) y “Elevada cantidad” (CT < 16) para la presencia de MTBc.⁵



Foto 2: GeneXpert

Límite de detección: 10-100 UFC/mL.

- **BD MAX:** plataforma molecular que combina el procesamiento de muestras y la PCR en tiempo real. El tiempo de informe es en el día y brinda sensibilidad o resistencia a rifampicina e isoniacida.²

Límite de detección: > 10 UFC/mL.

Esquema de tratamiento

El esquema de tratamiento está constituido por la asociación bactericida compuesta por isoniacida (H), rifampicina (R), pirazinamida (Z) y etambutol (E).

Tratamiento de tuberculosis en pacientes con HIV/SIDA

El tratamiento de la TBC es prioritario en estos pacientes respecto de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA), la que se indica en lo posible a las 2 semanas de tratamiento antituberculoso cuando los CD4+ sean inferiores a 100 cel./ μ L, entre 4 y 8 semanas con recuentos entre 100 y 200 cel./ μ L y a partir de las 8 semanas cuando los recuentos oscilen entre 200 y 350 cel./ μ L. Siempre debe incluir R, dado que existe un aumento de la mortalidad en regímenes sin esta droga. No deben emplearse regímenes intermitentes en pacientes con niveles de CD4 inferiores a 200 cel./ μ L (o si se desconocen).²

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El diagnóstico de VIH y tuberculosis en esta paciente añade una complejidad significativa a su caso clínico. Ambas enfermedades requieren un manejo cuidadoso y continuo.

Para el VIH, es crucial que la paciente continúe su tratamiento con la triple terapia antirretroviral para suprimir la carga viral y mantener su sistema inmunológico lo más saludable posible. Esto ayudará a prevenir la progresión del VIH a SIDA y reducirá el riesgo de aparición de enfermedades oportunistas y deterioro grave del sistema inmunológico.

En cuanto a la tuberculosis, el tratamiento antibiótico estándar es fundamental para controlar la infección y prevenir su propagación. Ya que al ser una paciente VIH positiva y el cuadro recientemente diagnosticado de TBC disminuirían la cantidad de linfocitos CD4+ importantes para su sistema inmunológico. También, es importante que la paciente sea adherente al tratamiento, ya que la interrupción puede llevar a la resistencia a los medicamentos y complicar aún más su condición.

Dado que la paciente se encuentra en situación de calle y presenta problemas psiquiátricos, el seguimiento y la atención continua es difícil de sobrellevar. Es fundamental coordinar con servicios de salud comunitarios, albergues y programas de asistencia social para asegurar que la paciente tenga acceso a un entorno estable que le permita seguir su tratamiento adecuadamente.

PERSPECTIVAS

A partir de los datos aportados a lo largo del caso clínico, se considera que hubiese sido oportuno solicitar los siguientes estudios complementarios:

- Nueva radiografía de tórax para evaluar cambios en las imágenes pulmonares y detectar posibles lesiones nuevas o progresión de las ya existentes, dado el cuadro clínico de la paciente. Debido a la coinfección con VIH, no se observarían las cavernas típicas de la TBC por la ausencia de macrófagos.
- UroTAC para investigar la causa de la hematuria, determinando si se debía a pólipos o a tuberculosis urogenital. Este estudio es esencial para descartar o confirmar la TBC urogenital, que podría estar contribuyendo a la sintomatología de la paciente. Esto nos confirmaría si la paciente presenta una forma diseminada de TBC.
- Cultivo de orina para B.A.A.R, la TBC urinaria requiere la recolección de tres muestras seriadas para un diagnóstico preciso. Solo se pudo realizar una muestra, lo cual fue insuficiente. Repetir este estudio es crucial para una evaluación completa.
- Hemocultivo micológico para histoplasmosis, aunque se realizó el antígeno urinario para histoplasmosis, la alta frecuencia de esta patología justifica la necesidad de un hemocultivo micológico. Este estudio permitiría confirmar o descartar una coinfección por *Histoplasma*, que podría estar implicada en el cuadro clínico de la paciente.
- Cuantificación del ARN del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y subpoblaciones linfocitarias para el seguimiento de su sistema inmune.

Lamentablemente, todos estos pedidos no se pudieron realizar ya que la paciente se retiró del efector sin el alta médica.

BIBLIOGRAFIA

1. Researchgate.net. Retrieved June 12, 2024, from https://www.researchgate.net/profile/Guillermo-Mayares-Villegas/publication/343218131_Tuberculosis-VIH_Fisiopatologia_de_la_coinfeccion/links/5f1cd09da6fdcc9626b3838b/Tuberculosis-VIH-Fisiopatologia-de-la-coinfeccion.pdf
2. Neumo-argentina.org. Retrieved June 12, 2024, from http://www.neumo-argentina.org/images/guias_consensos/guia_tuberculosis_del_hospital_muniz_2011.pdf
3. PowerPoint - *Aporte del laboratorio en el diagnóstico de la TBC: nuevas técnicas diagnósticas*. CREBioT (Centro Regional de Estudios Bioquímicos de la Tuberculosis) Bioquímica Sandra Fajardo (2022).
4. Chospab.Es. Retrieved June 12, 2024, from https://www.chospab.es/biblioteca/libros/Manual_Tuberculosis.pdf#page=146
5. Vallejo, P., V., Rodríguez D, J. C., Searle M, A., & Farga C, V. (2015). Ensayo Xpert MTB/RIF en el diagnóstico de tuberculosis. *Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias*, 31(2), 127–131. <https://doi.org/10.4067/s0717-73482015000200010>

Alumna: Juchani, Hernan

Tutor Académico: Schoepf, Victoria; Raviola, Mariana

Lugar de realización: Hematología, FCByF-UNR, Hospital Provincial del Centenario

Póster



LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA CON REARREGLO ATÍPICO e6a2: ABORDAJE INTERDISCIPLINARIO PARA EL DIAGNÓSTICO

Juchani, Hernán¹; Schoepf, María Victoria²; Raviola, Mariana²; Maróni, Georgina²; Ojeda, Mara²; Gaggioli, Stefan²; Casesi, Paulina²; Detarsio, Germán²; Pratti, Arianna².

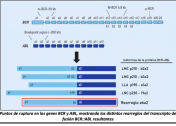
¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. ²Servicio de Hematología, Sala 9, Hospital Provincial del Centenario.

Presentación del caso clínico

Paciente masculino de 52 años, con antecedentes de fiebre intermitente, sudoración profusa, pérdida de peso y esplenomegalia. Debido a la naturaleza de los síntomas, se consideró la posibilidad de una neoplasia mieloproliferativa (NMP). Refiere aumento del perímetro abdominal. El examen físico reveló esplenomegalia dolorosa palpable, confirmada por tomografía. Dada la sospecha de una LMC, se realizó un aspirado de médula ósea, citometría de flujo, y estudios moleculares y citogenéticos, incluyendo la búsqueda del transcripto de fusión BCR-ABL p210 y mutaciones en los genes JAK2V617F, MPL y CALR.

Introducción

La leucemia mieloide crónica (LMC) es una neoplasia mieloproliferativa (NMP), se caracteriza por la presencia del cromosoma Philadelphia, que se forma por la translocación recíproca entre cromosomas 9 y 22, dando origen al gen de fusión BCR-ABL. Esta fusión produce una proteína con actividad tirosina-quinasa constitutiva, desregulado el ciclo celular. Los puntos de ruptura más frecuentes en ambos genes dan lugar a reordenamientos como e1a2, b2a2, b3a2 y e19a2, que originan las proteínas de fusión p190, p210 y p230, asociadas principalmente a LLA, LMC y LNC, respectivamente. Sin embargo, también existen reordenamientos menos comunes, como e6a2, e2a2 y e1a3.



Resultados

13/08/22
Hemograma:
GR: 71,420/L | GR: 2.680.000/μL | Hto: 28% | Hb: 7,0 g/dL | Plaq: 129.000/μL
FLR: Blastos 10% | Promieloc 2% | M1 6% | MM 5% | M1 2% | NC 1% | NS 44% |
Eo 3% | Bas 5% | L 11% | M 9% | GR nucleados/100GB 2

15/08/22
Medulograma: Mostró médula hiper celular con 8 5% de mieloblastos.
Citometría de flujo reveló leucocitosis y basofilia.

16/08/22
RT-PCR para BCR-ABL (isoforma p210): Resultado negativo.

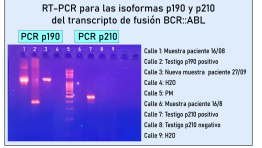
13/09/22
Estudios moleculares: PCR para mutaciones JAK2V617F, MPL y CALR negativos.

20/09/22
Examen citogenético: Detección del cromosoma Philadelphia (t(9;22)).

21/09/22:
RT-PCR para BCR-ABL (isoformas p210 y p230): Resultados negativos.
RT-PCR para la isoforma p190: Amplificación de peso molecular atípico, no compatible con p190.

Secuenciación Sanger: Confirmación de transcripto de fusión BCR-ABL atípico e6a2.

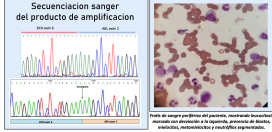
RT-PCR para las isoformas p190 y p210 del transcripto de fusión BCR-ABL



PCR p190 PCR p210

Calle 1: Muestra paciente N/8
Calle 2: Testigo p190 positivo
Calle 3: Muestra paciente 21091
Calle 4: N/20
Calle 5: PM
Calle 6: Muestra paciente N/8
Calle 7: Testigo p210 positivo
Calle 8: Testigo p210 negativo
Calle 9: N/20

Secuenciación sanger del producto de amplificación



Panel de secuencia genómica del paciente, mostrando la secuencia atípica e6a2, correspondiente al transcripto de fusión BCR-ABL.

Discusión y conclusiones

Un paciente con fiebre, sudoración profusa, pérdida de peso y esplenomegalia fue evaluado por sospecha de neoplasia mieloproliferativa (NMP). Los estudios iniciales mostraron leucocitosis y células inmaduras mieloides, sugiriendo NMP. Aunque la PCR cualitativa para BCR-ABL p210 fue negativa, el estudio citogenético reveló la presencia del cromosoma Philadelphia. Se requirieron las PCR para BCR-ABL, incluyendo isoformas menos frecuentes. La PCR para p190 produjo un amplión de peso molecular mayor al esperado, la secuenciación determinó que correspondía al rearreglo BCR-ABL e6a2, un transcripto atípico. El tratamiento con imatinib resultó en respuesta hematológica y citogenética, y el seguimiento debe realizarse con RT-PCR cualitativa específica debido a la naturaleza atípica del rearreglo.

Perspectivas

Este caso clínico subraya la importancia del abordaje interdisciplinario para el diagnóstico y tratamiento de leucemia mieloide crónica con rearreglo atípico e6a2. La presentación clínica y los primeros laboratorios sugirieron una neoplasia mieloproliferativa crónica, pero los resultados iniciales negativos en la prueba molecular podrían haber desviado el diagnóstico. La colaboración entre servicios médicos y de laboratorio fue crucial para lograr un diagnóstico preciso y una terapia adecuada. Este caso resalta la necesidad de profesionales capacitados y servicios especializados para abordar presentaciones inusuales de enfermedades.

Descargar el póster completo <https://hdl.handle.net/2133/29345>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUIMICAS Y FARMACEUTICAS

PRÁCTICAS PROFESIONALES BIOQUÍMICAS

2024

**LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA CON REARREGLO ATÍPICO e6a2:
ABORDAJE INTERDISCIPLINARIO PARA EL DIAGNÓSTICO**

Alumno: Hernan Juchani

Tutores: Mariana Raviola y Victoria Schoepf

Institución de rotación: Hospital Provincial del Centenario, SIEBE

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Paciente de 52 años consulta por cuadro de 3 semanas de evolución de registros febriles intermitentes con sudoración profusa y temblores, asociados a pérdida de peso no cuantificada. Refiere además aumento del perímetro abdominal y dolor con predominio en fosa lumbar e hipocondrio izquierdo en forma progresiva en las últimas semanas.

Se le realiza un hemograma completo con frotis de sangre periférica y un examen físico donde se constata esplenomegalia dolorosa palpable. En la tomografía de alta resolución se observa esplenomegalia e hipertrofia del lóbulo caudado del hígado.

Por el cuadro se sospecha de neoplasia mieloproliferativa crónica.

En base a esa sospecha se realiza un aspirado de médula ósea para realizar distintos estudios de laboratorio. Por un lado se realiza citometría de flujo para evaluar las poblaciones celulares de la médula. También se realiza por biología molecular la búsqueda del transcrito de fusión BCR::ABL p210 así como la detección de mutaciones de los genes Jak2V617F, MPL y CALR. Además se le realiza un examen citogenético para buscar posibles alteraciones asociadas al cuadro.

RESULTADOS

15/08/22: Medulograma y Citometría de Flujo

- Medulograma:
 - Descripción: Médula hipercelular con hiperplasia mieloide. Predominio de elementos maduros con 8,5% de mieloblastos. Basofilia.
- Citometría de flujo (Tabla 1):

Serie roja nucleada	2,5%
Granulocitos neutrófilos	71,5%
Eosinófilos	2,5%
Basófilos	11,5%
Linfocitos	4%
Células inmaduras mieloides	8%

Tabla 1: Citometría de flujo de aspirado de médula ósea.
--

16/08/2022: RT-PCR para el transcrito de fusión BCR::ABL (isoforma p210):

- Resultado: Negativo

13/09/22: Estudios moleculares

- PCR para detección de la mutación JAK2V617F:
 - Resultado: Negativo
- PCR para detección de las mutaciones en el gen MPL (MPLW515L/K):
 - Resultado: Negativo
- PCR seguida de secuenciación para detección de mutaciones del gen CALR:
 - Resultado: Negativo.

20/09/22: Examen citogenético

- Cariotipo: 46,XY, ?inv(5)(p13q13),t(9;22)(q34;q11)(20)
 - Conclusión: detección de cromosoma Philadelphia

27/09/22: Estudios moleculares complementarios

- RT-PCR para las isoformas p210 y p230 del transcripto de fusión BCR::ABL:
 - Resultado: Negativo.
- RT-PCR para la isoforma p190 del transcripto de fusión BCR::ABL:
 - Resultado: Se detecta un amplificado de peso molecular atípico, no compatible con la isoforma p190 (p190 negativo).

Secuenciación sanger del producto de amplificación:

- Resultado: Detección molecular de transcripto de fusión BCR::ABL atípico e6a2.

MARCO TEÓRICO

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMP) incluyen un grupo de hemopatías clonales íntimamente relacionadas que comparten numerosas características. La célula diana de la alteración clonal es la célula madre hematopoyética o célula madre (stem) mieloide y, por tanto, existe afectación de las líneas granulocítica-monocítica, eritroide y megacariocítica. Inicialmente, todas presentan una proliferación incrementada y maduración de las tres líneas en la médula ósea y sangre periférica (panmielosis), aunque con predominio específico de una línea en cada enfermedad concreta. Suelen cursar con esplenomegalia y, en menor grado, hepatomegalia, ocasionadas por el secuestro celular y por el desarrollo de hematopoyesis extramedular.

Las NMP son enfermedades crónicas, con una historia natural larga, que en el curso de su evolución pueden sufrir una progresión a fases más agresivas que terminan en fallo medular debido a mielofibrosis o se transforman en leucemia aguda. En la fase de transformación surgen alteraciones genéticas adicionales, aumento de la esplenomegalia y aparición de células blásticas. A veces existe solapamiento en el curso clínico de estas patologías, lo que puede dificultar el diagnóstico. Afectan sobre todo a adultos entre los 50 y los 70 años de edad, y su incidencia oscila entre 6-10 casos por cada 100.000 habitantes/año.

Clasificación

Durante décadas las NMP se han clasificado según las características fenotípicas de la proliferación celular predominante, considerando las siguientes entidades “clásicas”:

- Leucemia mieloide crónica (LMC): proliferación granulocítica.
- Policitemia vera (PV): proliferación eritroide.
- Trombocitemia esencial (TE): proliferación megacariocítica.
- Mielofibrosis primaria (MFP): proliferación megacariocítica asociada a proliferación fibroblástica reactiva.

Según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud, que se basa en la integración de datos morfológicos (citología e histología), inmunofenotípicos, moleculares y citogenéticos se distinguen las NMP con cromosoma Philadelphia (Ph) positivas (LMC) y las Ph negativas (PV, TE, MFP, leucemia neutrofílica crónica (LNC), leucemia eosinofílica crónica, leucemia mielomonocítica crónica juvenil y otros neoplasmas mieloproliferativos no especificados).

Leucemia mieloide crónica

La leucemia mieloide crónica es una neoplasia mieloproliferativa, constituye el 15% de las leucemias del adulto y tiene una incidencia de 1-2 casos cada 100.000 personas por año. Aunque se puede presentar en cualquier grupo etario, la mediana de la edad para el comienzo de la enfermedad es de 67 años.

Aunque alrededor de un 50% de los pacientes resulta asintomático al momento del diagnóstico, los síntomas generales (pérdida de peso, sudores nocturnos), esplenomegalia y hepatomegalia son los síntomas que predominan inicialmente.

Se caracteriza por la presencia del cromosoma Philadelphia, que se forma por la translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22, dando origen al gen de fusión BCR::ABL. El producto de este gen es una proteína que tiene actividad tirosina-kinasa constitutiva y conduce a la desregulación del ciclo celular.

Los puntos de ruptura más frecuentes en el gen BCR ocurren en los exones: 1(e1), 13(b2), 14(b3) y 19(e19) y el punto de ruptura en el gen ABL habitualmente se produce en el exón 2(a2), generando reordenamientos e1a2, b2a2 o b3a2 y el e19a2. Los productos de estos reordenamientos corresponden a proteínas de fusión de peso molecular 190 kD (denominada p190), de 210 kD (p210) y de 230 kD (p230), cada una de las cuales está asociada principalmente a la LLA, LMC y LNC, respectivamente. Existen otros puntos de ruptura que dan lugar a reordenamientos infrecuentes como e6a2, e2a2, e1a3.

El curso clínico y biológico de la LMC transita tres etapas: fase crónica, fase aguda y crisis blástica.

Aproximadamente 80-90% de los casos se presentan inicialmente en fase crónica, y de no instalarse el tratamiento se estima que transcurren aproximadamente 3 a 5 años para la transformación a fases avanzadas.

Procedimiento diagnóstico

La enfermedad se identifica mediante el examen clínico y el análisis de la sangre periférica. En el hemograma se destaca la leucocitosis con desviación a la izquierda, es decir presencia de elementos inmaduros de serie granulocítica con predominio de mielocitos y metamielocitos.

La confirmación del diagnóstico se obtiene constatando la presencia del cromosoma Ph utilizando diferentes técnicas citogenéticas y/o por análisis moleculares que detectan al gen de fusión BCR::ABL1 y sus isoformas.

Estudio citogenético

El estudio citogenético por bandeo G se efectúa en médula ósea. Se recomienda su utilización antes de iniciar tratamiento y hasta obtener la respuesta citogenética completa. En el 95% de los casos se detecta el cromosoma Ph producido por la translocación recíproca de los cromosomas 9 y 22 (t(9;22) (q34;q11) denominada translocación clásica). El clon Ph positivo puede adquirir nuevas alteraciones citogenéticas, fenómeno conocido como evolución clonal que está asociado con progresión de enfermedad.

En el 5% restante puede no detectarse el Ph aunque exista la fusión BCR::ABL1 (Ph enmascarado), resultado de translocaciones variantes que involucran otros cromosomas además del 9 y 22. En este caso, la confirmación del diagnóstico depende de la detección del BCR::ABL1 por otros métodos más específicos y sensibles (FISH y RT-PCR).

FISH (HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE)

La técnica emplea sondas locus específicas y permite detectar el 100% de las fusiones BCR::ABL1, aunque no identifica el tipo de transcrito y puede realizarse en muestras de sangre periférica. Resulta de gran utilidad cuando el estudio citogenético por bandeo G no es concluyente.

Estudio molecular BCR::ABL1 cualitativo (RT-PCR) y cuantitativo (qRT-PCR)

El estudio cualitativo para la detección de los transcritos de fusión BCR::ABL^{P210-P190-P230} consiste en una retrotranscripción de los ARN mensajeros presentes en sangre periférica seguida de reacciones de PCR específicas para cada isoforma. Estas reacciones son utilizadas para diagnóstico de LMC y algunos tipos de leucemia aguda.

La qRT-PCR cuantifica el número de copias del reordenamiento BCR::ABL1 con alta sensibilidad, para los rearrreglos b2a2 [e13a2], b3a2 [e14a2] de la isoforma p210, e1a2 de la isoforma p190 y e19a2 de la isoforma p230. Debido a estas limitaciones es necesario identificar el rearrreglo molecular del gen de fusión al momento del diagnóstico para el correcto monitoreo de la enfermedad mínima residual y así evitar posibles falsos negativos.

Tratamiento

En la actualidad existen diferentes inhibidores de tirosin quinasa (ITKs) aprobados como tratamiento de primera línea para pacientes con leucemia mieloide crónica en fase crónica: Imatinib es el de primera generación y Bosutinib, Dasatinib y Nilotinib que son de segunda generación. El Ponatinib es de tercera generación y se utiliza en la segunda línea de

tratamiento en caso de falla en el tratamiento con los anteriores, pero se debe evaluar el riesgo cardiovascular del paciente debido a los posibles efectos secundarios cardiovasculares asociados con el medicamento.

El objetivo del tratamiento es lograr una calidad de vida óptima, evitar toxicidad a largo plazo y lograr la respuesta molecular completa y sostenida para considerar la posibilidad de discontinuar el tratamiento con ITK para llegar a lo que se conoce como “remisión libre de tratamiento”.

Seguimiento

Es fundamental que el paciente sea controlado para evaluar la adherencia, la respuesta al tratamiento y para detectar tempranamente la pérdida de respuesta que puede llevar a una recaída. Se evalúa:

- Respuesta hematológica

Hemograma completo de sangre periférica cada 2 semanas hasta la respuesta hematológica completa, luego se realiza mensualmente durante 3 meses y finalmente cada 3 meses.

Definición de respuesta hematológica completa:

- Glóbulos blancos: menos de $10.000/\text{mm}^3$
- Plaquetas: menos de $450.000/\text{mm}^3$
- Desaparecen las células inmaduras
- Sin síntomas clínicos de la leucemia (incluida la esplenomegalia)

- Respuesta citogenética

Respuesta citogenética mayor: Menos de 35% de células Philadelphia positivas en médula ósea.

Respuesta citogenética completa: Philadelphia negativo en médula ósea.

- Respuesta molecular:

Respuesta molecular mayor: Relación BCR-ABL/ABL entre 0,01-0,1%

Respuesta molecular completa: BCR-ABL indetectable (menor a 0,01%).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El paciente se presenta con fiebre, sudoración profusa, pérdida de peso, esplenomegalia. Estos síntomas son comunes en las neoplasia oncohematológicas, por lo que es importante seguir una serie de pasos lógicos y ordenados para identificar la enfermedad subyacente.

El examen físico permite evaluar la presencia de signos clínicos relevantes para reducir el espectro de diagnósticos posibles. La presencia de esplenomegalia y hepatomegalia permitió sospechar aún más de un proceso neoplásico mieloproliferativo (NMP).

La evaluación inicial del hemograma mostró anomalías como leucocitosis y presencia de células inmaduras mieloides, orientando hacia una posible NMP. Estos hallazgos se correlacionaron con lo observado en el medulograma por lo cual se realizaron estudios moleculares y citogenéticos que permitieran confirmar el diagnóstico.

Debido a que la NMP más frecuente es la LMC se solicitó una PCR cualitativa para la detección de BCR::ABL p210 resultando negativo. Por este motivo a continuación se le realizaron estudios moleculares para detectar mutaciones en JAK2, MPL y CALR, para descartar o confirmar alguna de las NPM Ph negativas (Policitemia Vera, Mielofibrosis Primaria y Trombocitemia Esencial). Los ensayos dieron negativos.

Por otro lado, el estudio citogenético detectó la presencia del cromosoma Ph, motivo por el cual se decidió repetir la RT-PCR para BCR::ABL p210 y sumar las isoformas menos frecuentes p190 y p230. El rearreglo que da origen a la isoforma p210 nuevamente resultó negativo así como p230. En la reacción para p190 se obtuvo un amplicón de más de 1000 pb que no coincidió con el peso molecular esperado para p190. Ante esta discordancia de pesos moleculares y con el resultado del estudio citogenético se realizó la secuenciación del amplicón y se determinó que correspondía al transcripto de fusión BCR::ABL e6a2, un rearreglo atípico.

La razón por la que se pudo obtener el amplicón con rearreglo e6a2 usando la RT-PCR para la p190, se debe a que la secuencia diana a la que se unen los primers está presente en la secuencia del rearreglo e6a2. Esto resulta de suma importancia para el seguimiento.

Luego de iniciar tratamiento con Imatinib, el paciente alcanzó respuesta hematológica y citogenética. Si bien la técnica estándar para medir enfermedad residual mínima y evaluar la respuesta terapéutica es la qRT-PCR, ésta no puede emplearse en este caso, ya que la misma solo detecta los rearreglos típicos (b2a2 y b3a2), por lo tanto el control del tratamiento se

debe realizar utilizando los primers empleados en la técnica de RT-PCR cualitativa para BCR::ABL^{p190}.

PERSPECTIVAS

En este caso clínico se destaca la importancia del abordaje interdisciplinario en el diagnóstico y manejo de una leucemia mieloide crónica con un rearrreglo atípico e6a2. El diagnóstico inicial fue complejo, ya que si bien la presentación clínica y los primeros laboratorios orientaban a una posible neoplasia mieloproliferativa crónica, los resultados iniciales negativos en la prueba molecular pudieron desviar el diagnóstico. Sin embargo, la colaboración entre los diferentes servicios asistenciales médicos y de laboratorios permitió llegar a un diagnóstico preciso y a la implementación de un tratamiento adecuado.

Es de destacar la importancia de contar con profesionales formados y servicios asistenciales capacitados para resolver casos complejos que escapan a la presentación clásica de una patología.

BIBLIOGRAFIA

1. Khoury JD, Solary E, Abla O et al. *The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms*. Springer Nature. 2022.
2. Artigas Carmen Gloria, Melo Angelica, Roa Juan Carlos, Roa Ivan, Quijada Ingrid, Vittini Cecilia, Cabrera María Elena, Risueño Concepción. *Transcripto de fusión del gen BCR-ABL en pacientes con leucemia mieloide crónica*. Revista internacional de morfología, 2003.
3. Shah NP, Bhatia R, Altman J et al. *Chronic Myeloid Leukemia, NCCN Guidelines Chronic Myeloid Leukemia*. J Natl Compr Canc Netw. 2023.
4. Cross N C, White HE, Müller MC, Saglio G, Hochhaus A. *Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia*. Nature Portfolio. 2012
5. Hochhaus A, Baccarani M, Hehlmann R et al. *European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia*. Nature Portfolio. 2020.
6. Khoury HJ et al. *Analysis of the cardiovascular risk profile of Ph+ leukemia patients treated with ponatinib*. J Clin Oncol. 2013.
7. Mahon FX, Réa D, Guilhot J et al. *Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicenter Stop Imatinib (STIM) trial*. Lancet Oncol. 2010.
8. Pavlovsky C, Abello PV, Pagnano K et al. *Treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia: recommendations of the LALNET expert panel*. Blood Adv. 2021.

Monografía



Prácticas Profesional Obligatoria (PPO)

“ Arbovirus: Epidemia de dengue en Argentina”

2024

Autor

Franco Arcadi

Tutora:

Eleonora Pezzarini

Institución:

Hospital "Intendente Gabriel Carrasco"

Presentación:

En el siguiente trabajo se describe la patología del dengue: su etiología y formas de presentación clínica; metodología de diagnóstico según el Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS^{2.0}) y epidemiología a través del tiempo en la argentina, junto a las perspectivas de crecimiento de casos en los últimos años y su posible explicación.

Marco teórico:

Etiología:

Los arbovirus son aquellos virus que son transmitidos por artrópodos hematófagos.

En el caso del Dengue (Zika y Chikungunya, también) es transmitido por mosquitos del género Aedes, de especies Aegypti y Albopictus (con predominancia en el primero).

Este virus es de la familia de los flavivirus y tiene 4 serotipos: DEN 1, DEN 2, DEN 3 y DEN 4.

La infección primaria confiere inmunidad contra el primer serotipo de dengue de forma permanente.

Presentación clínica:

Existen 3 formas de presentación de la enfermedad: Asintomático, Dengue clásico (en el cuál no hay complicaciones) y Dengue grave.

Afecta exclusivamente a humanos y cualquiera de ellos puede causar formas graves, aunque se ha descrito que los serotipos 2 y 3 tienen mayor relación con dichas formas. Además, la infección del dengue con un serotipo diferente al primero tiene más posibilidad de llevar a una infección grave.

El dengue clásico se caracteriza por fiebre, puede existir dolor muscular y articular, cefalea, dolor retro-orbitario, astenia, exantema predominantemente máculo-papular con o sin prurito, discreto dolor abdominal, náuseas y vómitos. En un porcentaje significativo de pacientes existe diarrea, en general pastosa y de baja frecuencia. En esta etapa es característica la postración vinculada a estos síntomas.

Los síntomas del dengue grave suelen presentarse cuando desaparece la fiebre. Son los siguientes:

- dolor abdominal intenso
- vómitos persistentes
- respiración acelerada
- hemorragias en las encías ó nariz

- cansancio
- agitación
- vómitos o heces con sangre
- sed intensa
- piel pálida y fría
- debilidad general

Es por eso que debe llevarse un buen control de la evolución del paciente ya que la forma grave puede derivar a un shock o a la falla multiorgánica, y consecuente muerte del paciente.

En cuanto a la detección de la enfermedad según el SNVS^{2.0} :

Deberá notificarse un caso de Dengue Sospechoso en el SNVS^{2.0} -en forma inmediata-, toda vez que un laboratorio obtenga o reciba una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realizara el estudio, deberá derivarla al referente provincial a través del SNVS 2.0

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida con 7 o MAS DIAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).

Resultados:

Epidemiología en Argentina:

Los datos epidemiológicos tomados del “Boletín Epidemiológico Nacional” se realizan desde la semana 31 del año anterior hasta la semana 31 del año siguiente. Este trabajo se realizó con el “Boletín Epidemiológico Nacional” de la semana 20 del 2024. Es decir, se describen los datos desde la semana 31 del 2023 hasta la semana 20 del 2024.

En el siguiente gráfico se puede observar una aparición de los casos de dengue a partir de la semana 43 y van en aumento hasta su pico en las semanas 12 y 14 con un promedio de casos registrados de 58.647 semanales.

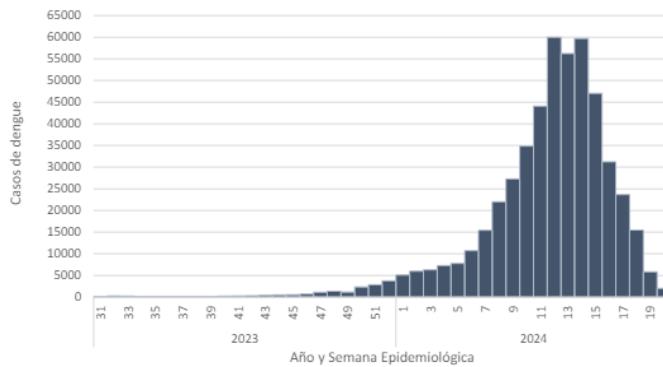


Gráfico 1: Casos de dengue por semana epidemiológica. Argentina

Si comparamos los casos acumulados en las últimas temporadas podemos observar que hay un gran aumento de los casos a medida que pasan las temporadas y un aumento muy grande de casos en la temporada actual con respecto a las anteriores. Los casos acumulados hasta ahora (de esta temporada -2023/2024-) representan 3,35 más que lo registrado en el periodo -2022/2023- y 8.12 más que la temporada -2019/2020-

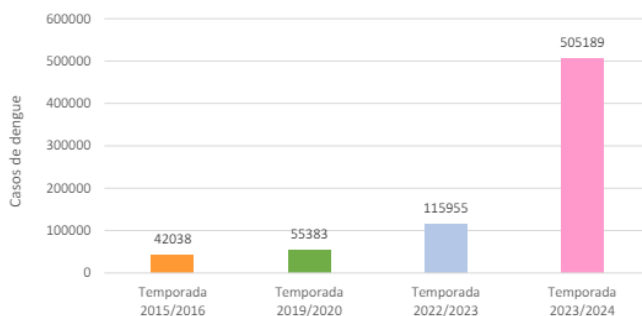


Gráfico 2: Casos acumulados de dengue por temporada.

En el gráfico 3 se puede observar los datos de los casos por semana de cada temporada. Se observa que los casos empiezan a aparecer ya mucho antes en la temporada -2023/2024- (semana 43 del año 2023) con respecto a las temporadas anteriores: semana 51 del año 2015 (temporada -2015/2016-), semana 6 del año 2020 (temporada -2019/2020-) y semana 9 del año 2023 (temporada -2022/2023-).

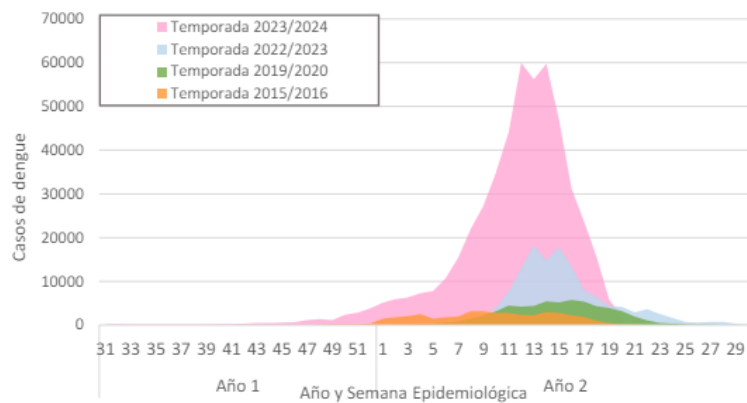


Gráfico 3: Casos totales por semana epidemiológica (incluye autóctonos, importados y en investigación) en temporadas epidémicas. Argentina

Con respecto a la distribución etaria, los datos conducen a que gran parte de los casos recaen en los adultos jóvenes (edad:20-28 años), teniendo este grupo la mayor tasa de incidencia cada 100,000 habitantes. En cambio, con respecto a la morbilidad de la enfermedad, el grupo etario con mayor tasa de morbilidad cada 100,000 habitantes es el de los ancianos mayores de 80 años.

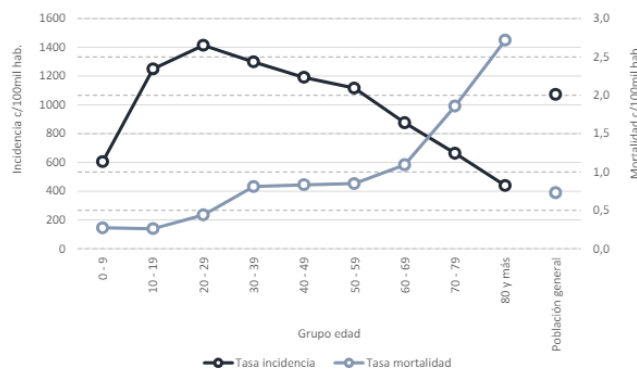


Gráfico 4: Incidencia acumulada y mortalidad cada 100.000 habitantes según grupo de edad.

En cuanto a los serotipos predominantes sólo se encontraron personas con la enfermedad con los serotipos DEN 1, DEN 2 y DEN 3, con mayor predominio con el serotipo 2, seguido del 1 y pocos casos del serotipo 3.

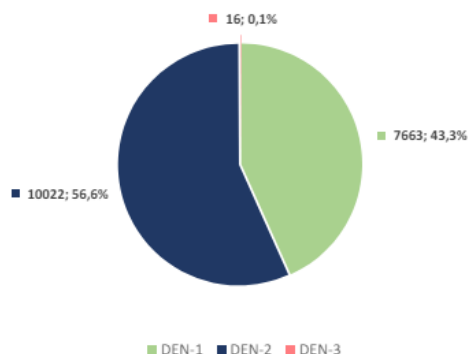


Gráfico 5: Distribución proporcional de serotipos en casos sin antecedente de viaje. Argentina (n=17701)

Si observamos los datos de personas fallecidas con comorbilidades podemos inferir que la más frecuentes son las enfermedades cardíacas, seguida de diabetes y obesidad. Estos datos se obtuvieron de 124 de personas fallecidas. En el siguiente gráfico, el número de individuos es mayor ya que se tuvo en cuenta que hay personas con más de una comorbilidad.

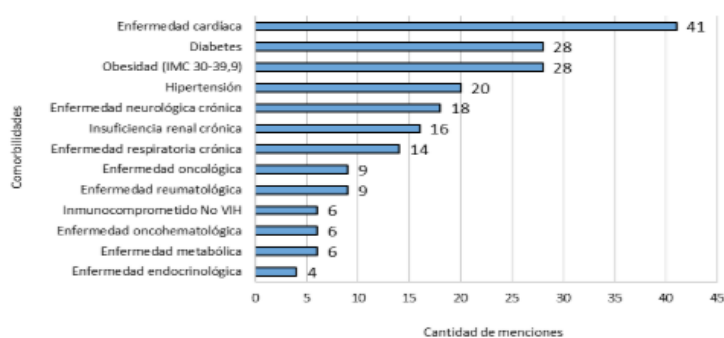


Gráfico 6: Comorbilidades en casos fallecidos (n=208)

Epidemiología en Santa Fe y Rosario:

En cuanto a Santa Fe se describen los casos hasta la semana 20 según el boletín epidemiológico de dicha provincia.

En Santa fe se observó que en la semana 15 del 2024 el pico de los casos de dengue con una cantidad total de 5712 de casos reportados, seguidos de la semana 14 con 5514 casos y la semana 10 con 5126 casos.

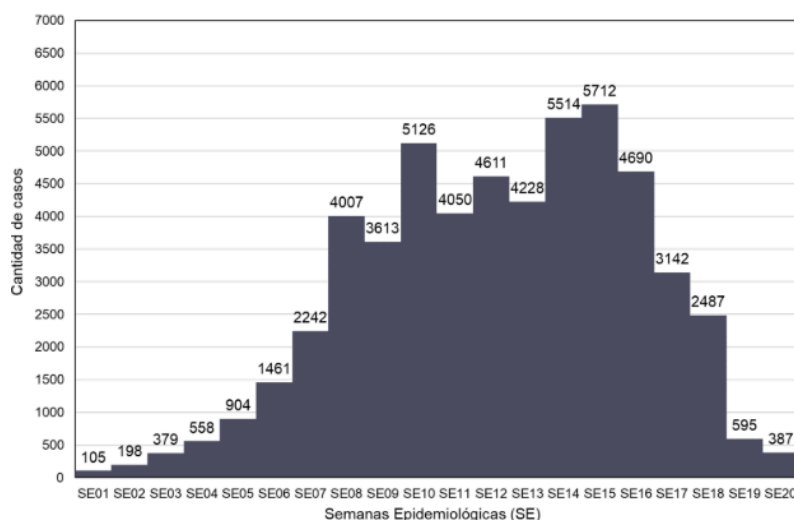


Gráfico 7: Casos según la semana epidemiológica. Santa Fe, Argentina.

Con respecto a la distribución de casos en la provincia de Santa Fe, se registró que el departamento de Rosario representa un 48%, La Capital 10%; Castellanos 9%; Las Colonias y San Cristóbal 5% respectivamente, entre los más afectados.

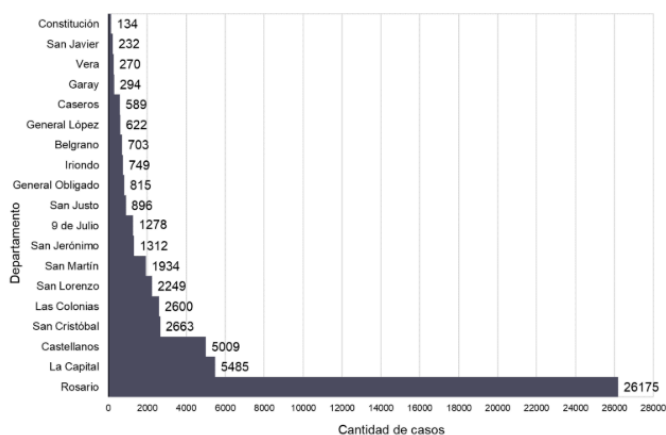


Gráfico 8: Distribución de casos según departamento de Santa fe hasta la semana 20.

Si nos enfocamos en Rosario, el primer foco importante se dio a fin de año en el barrio Toba de Rouillon (zona oeste) y en enero en barrio Banana y en Empalme Graneros. El virus se extendió hacia el barrio Los Pumitas y luego más hacia el norte. Con el correr de las semanas se instaló en el sur de la ciudad y ya de ahí abarcó casi todo el territorio, con un pico en la semana 10.

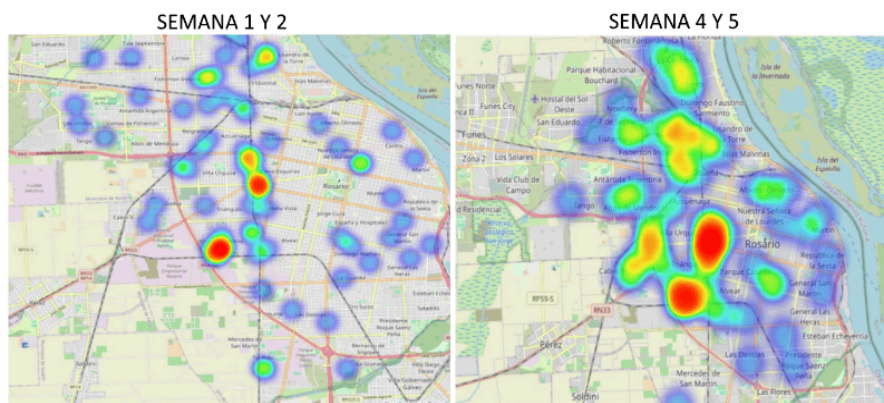


Gráfico 9: Mapa de calor de los casos de dengue en las semanas 1 y 2 y 4 y 5

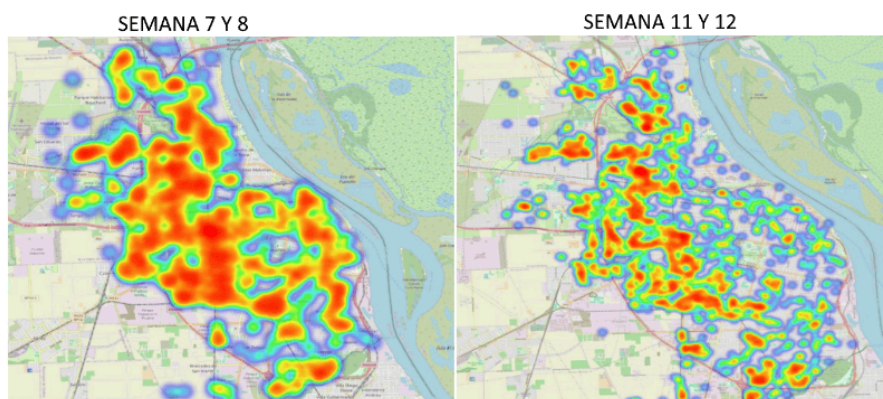


Gráfico 9: Mapa de calor de los casos de dengue en las semanas 7 y 8 y 11 y 12

Discusión y conclusiones:

Según los datos expuestos en este trabajo podemos concluir que hubo una suba exponencial de los casos de dengue con respecto a otras temporadas. Además, se puede observar que los casos empezaron a aparecer en nuestro país muchas semanas antes que en otras temporadas.

El grupo etario más prevalente es en los casos es de entre 20-28 años. Esto puede deberse a que este grupo tiene mayor actividad con respecto a otros grupos etarios. En cambio, el grupo etario con mayor tasa de mortalidad es el de +80 años, esto puede deberse a las comorbilidades, que están más presentes en este grupo que en otros. Y en cuanto a las comorbilidades, las que están asociadas mayormente a la muerte por este virus son las enfermedades cardíacas. Esto es causa de las hemorragias (evidenciada en la presentación

clínica del dengue grave), haciendo que el aparato cardiovascular quiera compensar esas pérdidas, agravando el cuadro y pudiendo producir la muerte.

El pico de casos en Santa Fe coincide con el pico de casos en Argentina. Los casos de Santa Fe se concentran principalmente en Rosario. Esto es debido a la gran urbanización que tiene este departamento con respecto a los demás y la gran densidad de personas que habitan allí.

Si hablamos en cambio de Rosario, el pico no coincide exactamente con el mayor que se da en Argentina pero si coincide con uno de los dos picos de casos que se registran en Santa Fe.

Perspectivas:

Si tomamos los datos epidemiológicos a través del tiempo, podemos observar que hay un crecimiento de los casos de dengue. Esto conlleva a que tengamos que tomar medidas para disminuir al mínimo los casos y así evitar mayores muertes por dengue.

Una de ellas es seguir controlando al vector. El *aedes aegyptis* conocido como el mosquito “hogareño” por sus hábitos domiciliarios. Es de color oscuro con franjas y manchas blancas y se cría en recipientes con agua. Por eso es necesario evitar todo tipo de agua estancada en las casas para no generar criaderos.

Para evitar las picaduras se debe usar repelente contra insectos, colocar mosquiteros en puertas y ventanas y utilizar repelentes ambientales como tabletas (interior) y espirales (exterior). Hay que tener en cuenta que hay que tener mayor cuidado con personas con una comorbilidad previa y embarazadas.

En cuanto a las medidas de salud pública, en Argentina, hay una vacuna que ya está aprobada por ANMAT: Qdenga. Es una vacuna a virus vivo atenuado del serotipo DEN2 (que es el serotipo con más incidencia), al que se añade ADN de los otros tres serotipos para proteger contra cualquiera de los cuatro tipos de dengue. Esta vacuna está dirigida a aquellas personas que vivan en zonas endémicas y/o hayan sido infectadas por primera vez. También, se realizan fumigaciones en focos donde se detectan muchos casos, para acabar con el vector. Es importante tener en cuenta que estas medidas no reemplazan a las medidas individuales.

En cuanto a la detección del virus, en mi experiencia en el Hospital "Intendente Gabriel Carrasco" no se encontraban disponibles los Kits para la detección del antígeno NS1 o para detectar anticuerpos anti-virus del dengue por ELISA (según los días después de iniciados los síntomas). Por ello, a las personas que presentaban fiebre sin foco, se los derivó al laboratorio por sospecha de Dengue donde se tomó una muestra de sangre para la realización de enzimas hepáticas y hemograma. Al diagnóstico se arribaba si el paciente cumplía con los siguientes criterios: transaminasas (GOT/GPT) elevadas, leucopenia y plaquetopenia. También podría acompañarse de un hematocrito elevado. Una vez tratados y curados se les realiza un control donde se vuelven a medir estos parámetros.

Si se produce un caso grave se le realiza un seguimiento de estos parámetros para ver su evolución.

Perspectivas a futuro:

Una explicación posible de la suba de casos y que estos hayan empezado semanas antes que otras temporadas, es que haya un cambio en el vector que lleva este virus.

Se ha demostrado en estudios que el mosquito *Aedes aegypti* se está adaptando a las temperaturas de la primavera e incluso del frío; por ende, estos transmiten el virus aún en presencia de bajas temperaturas. Se observó en el estudio "*New records of Aedes aegypti at the southern limit of its distribution in Buenos Aires province, Argentina*" del 100% de los mosquitos estudiados que a 16°C sobrevive el 88%; a 14°C lo hace el 82%, y a 12°C la supervivencia es del 22%.

Recordando que el vector vive en condiciones de altas temperaturas, tales como las que se producen en verano. Esta adaptación representa un problema para la transmisión de la enfermedad del virus del Dengue así como de otras enfermedades tales como Zika y Chikungunya, ya que el vector es aún más resistente a las bajas temperaturas. Por lo cual podemos encontrar a *Aedes aegypti* todo el año.

Bibliografía:

1.Dengue y dengue grave. WHO. 2024

https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue?gad_source=1&gclid=CjwKCAjw0YGyBhByEiwAQmBEWuA6rtY8XaKS6RM9dyDrdbqxbxT2AbLVK6VRFEQUGilouEFAa5FyZhoCsUoQAvD_BwE

2.Dengue en adultos: diagnóstico, tratamiento y abordaje de situaciones especiales.Dres.

Victoria Frantchez, Richard Fornelli, Graciela Pérez Sartori, Zaida Arteta, Susana Cabrera, Leonardo Sosa, Julio Medina. Rev. Méd. Urug. vol.32 no.1 Montevideo abr. 2016

http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902016000100006

3.Boletín EPIDEMIOLOGICO NACIONAL.Dirección de epidemiología del Ministerio de la Salud de Argentina.2024 semana 20.

<https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2024/04/ben-705-se-20.pdf>

4.Dengue: la expansión del virus en Rosario, los mapas de calor y los motivos del peor brote.

Ricardo Robins. 06/04/2024. Rosario 3.

<https://www.rosario3.com/especiales/Dengue-la-expansion-del-virus-en-Rosario-los-mapas-de-calor-y-los-motivos-del-peor-brote-20240405-0044.html>

5.Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS 2.0. Ministerio de la salud Argentina.

<https://bancos.salud.gob.ar/recurso/dengue-algoritmo-de-diagnostico-y-notificacion>

6. New records of Aedes aegypti at the southern limit of its distribution in Buenos Aires province, Argentina. Gabriela Zanotti, María Sol De Majo, Iris Alem, Nicolás Schweigmann, Raúl E. Campos y Sylvia Fischer. Journal of Vector Ecology. Diciembre 2015

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/jvec.12181>

7.Informe epidemiológico. Semana 20 del 2024. Ministerio de Salud de Santa Fe.

https://www.santafe.gob.ar/noticias/recursos/documentos/2024/05/2024-05-24NID_2803510_1.pdf

8.Vacuna contra el dengue. Departamento de Medicina Preventiva y Laboral. Ministerio de la Nación

<https://www.csjn.gov.ar/medprev/verMultimedia?data=8395>

9.Las claves de la vacuna contra el dengue: todo lo que hay que saber.Natalia Lazzarini.

17-04-2024.

<https://unciencia.unc.edu.ar/salud/las-claves-de-la-vacuna-contr-el-dengue-todo-lo-que-hay-que-saber/#:~:text=%E2%80%93Las%20personas%20que%20vivan%20en,personas%20que%20se%20infectaron%20previamente.>

Póster

Monografía



UNR Universidad
Nacional de Rosario



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

“Caso Clínico: Cerebelitis por coinfección de los serotipos 1 y 2 del virus dengue en paciente puérpera.”

Alumna: Trinidad Vacca

Áreas de rotación: Virología / Centro de Tecnología en Salud Pública (CTSP)

Tutora: Dra. Ana Laura Cavatorta (Profesora Área Virología)

Co-tutor: Luciano Civerchia (Bioquímico CTSP)

Consultora: Dra. Cintia Rodriguez (Médica residente del Servicio de Neurología del Hospital Provincial del Centenario)

Año 2024

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Mujer de 24 años, sin antecedentes de enfermedades crónicas conocidas, cursando mes número dos en su segundo puerperio, ingresa al Hospital Provincial del Centenario traída por familiares por un cuadro de 24 horas de evolución caracterizado por alteraciones conductuales (agresividad, irritabilidad y llanto), mio-artralgias a predominio de miembros inferiores y dolor abdominal. Al ingreso se constató registro febril de 38,3°C, por lo que se decidió su internación. Al examen físico se encontraba orientada globalmente, movilizaba espontáneamente las cuatro extremidades, no impresionaba signos meníngeos, siendo el resto de examen físico de difícil evaluación por el estado de excitación de la paciente.

RESULTADOS

Laboratorio de ingreso (16/02/2024)

Hemoglobina: 13.3 gr/dL	Hematocrito: 38 %	GB (4000-10000): 5340 /mm ³	Plaquetas (150000-300000): 254000/mm ³	Glucosa (70-110): 88 mg/dL	Urea (20-45): 22 mg/dL
Creatinina (0.50-0.90): 0.74 mg/dL	Na⁺ (135-145): 136 mEq/L	K⁺ (3.5-5.0): 3.24 mEq/L	Cl⁻ (95-110): 97 mEq/L	Calcio total (8.1-10.4): 9.4 mg/dL	Fosfatemia (2.5-4.5): 3.8 mg/dL
Mg²⁺: 2.1 mg/dL	PCR: 10.1 mg/L	CPK (24-195): 922 UI/L	LDH (230-460): 258 UI/L	TP: 10.4 seg	KPTT: 27 seg
RIN: 1.03	Bil T: 0.30	TGO (<31): 94 UI/L	TGP (<32): 111 UI/L	FAL: 77	GGT: 23

Laboratorios de internación

18/02	19/02	22/02	26/02	Valores de referencia
Leucocitos: 2.580/mm³	Leucocitos: 3.320/mm ³	Leucocitos: 5.990/mm ³	Leucocitos: 10.850/mm ³	(4.000 - 10.000)/mm ³
Plaquetas: 246.000/mm ³	Plaquetas: 263.000/mm ³	Plaquetas: 338.000/mm ³	Plaquetas: 416.000/mm ³	(150.000 - 300.000)/mm ³
Potasemia: 3,36 mEq/L	Potasemia: 3,0 mEq/L	Potasemia: 3,24 mEq/L	Potasemia: 3,94 mEq/L	(3.5 - 5.0) mEq/L
GOT: 53 UI/L				< 31 UI/L
GPT: 68 UI/L				< 32 UI/L
CPK: 603 UI/L	CPK: 161 UI/L			(24-195) UI/L

Laboratorios complementarios:

- **Ac a-T. pallidum (16/02/2024):** Reactivo.
- **V.D.R.L (16/02/2024):** Reactiva 4 dils.

- **Pruebas séricas Dengue (17/02/2024):** Ag NS1 reactivo. IgM e IgG no reactivas.
- **Se realizó RT-PCR multiplex en suero (17/02)** con resultado detectable para DENV-1 DENV-2. A su vez se realizó **PCR simplex** con el fin de confirmar la co-infección con DENV-1 y DENV-2 obteniendo resultados detectables para ambos.
- **PCR virales séricas Zika - Chikungunya (17/02/2024):** no detectables.
- **Hemocultivos x2 (17/02/2024):** negativos finalizados.
- **Punción lumbar LCR (17/02/2024) posición sentada:** presión apertura no se pudo tomar. Límpido, incoloro, proteinorraquia 0.52 g/L, Glucorraquia 0.97 g/L (Glicemia capilar 89 mg/dL), Pandy 1+, Elementos 200, PMN 92%, Tinta china negativo y VDRL no reactivo.
 - **Gérmenes comunes directo y cultivo:** negativo finalizado.
 - **Pruebas moleculares para virus comunes:** Citomegalovirus, Virus de Epstein Barr, Virus del Herpes Simplex I y II, Virus Varicela Zóster y Enterovirus no detectables. **RT-PCR multiplex** detectable para DENV-1 y DENV-2.
- **Interconsulta con neurología (18/02):** A las 48 horas de internación, intercorre con alteración de movimientos oculares sacádicos, disartria severa, dismetría de cuatro miembros así como ataxia de tronco y en la marcha.
- **Se realiza Resonancia magnética instantánea (RMI) de cráneo con contraste:** impresiona sutil hiperintensidad de ambos pedúnculos

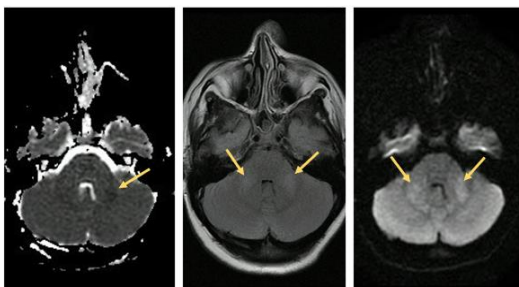


Figura 1. RMI de cráneo con contraste realizada el día 22/02/24

dengue (Figura 1).

cerebelosos medios en secuencia Flair y T2, con hiperseñal en Difusión y caída de la señal en ADC a izquierda, interpretando el cuadro como síndrome cerebeloso secundario a infección directa por

- **Serología para dengue en muestra pareada (27/02):** Ac IgG y Ac IgM:

Positivo; Ag NS1: Negativo.

- **Prueba Gold Standard de Neutralización en muestras pareadas (27/02):** en el laboratorio de referencia nacional de enfermedades virales “Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui” donde se procesó el par serológico por prueba de neutralización para panel de Flavivirus, sin detectar anticuerpos neutralizantes en ninguna de las muestras para dengue 4, encefalitis de San Luis, West Nile, Fiebre Amarilla ni Zika. Se detectaron anticuerpos neutralizantes en alto título con seroconversión para los virus dengue 1 y 2 con un mínimo cruce serológico, mostrando un patrón primario de respuesta inmune”.

Evolución

- 16/02 al 29/02: La paciente cursó internación en sala general, para control de parámetros tanto hemodinámicos como bioquímicos y rehabilitación motora, evolucionando favorablemente, con requerimiento de ayuda de terceros para movilizarse y aseo personal, con mejoría de las alteraciones conductuales, persistiendo el síndrome cerebeloso.
- 29/02: Se le da el alta de internación, continuando con rehabilitación de manera ambulatoria.
- 16/03: Concorre a control donde se evidencia escasa mejoría de la sintomatología. En la exploración física, persistía con disartria escandida moderada, limitación en la abducción de ambos ojos, con movimientos sacádicos hipométricos. Además, continuaba presentando dismetría de las cuatro extremidades, así como ataxia de la marcha, sin presentar otras alteraciones neurológicas.
- 16/03: Se realiza RMI de cráneo de control en la cual se evidencia resolución ad integrum de las lesiones descritas inicialmente en la figura 1.

MARCO TEÓRICO

Virus Dengue

El virus del dengue (DENV), perteneciente al género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae*, es un patógeno que representa una creciente amenaza para la salud pública en América Latina. Causa una enfermedad viral aguda que se manifiesta con un amplio espectro de síntomas, desde cuadros febriles leves hasta formas graves.

Es un virus envuelto cuyo genoma está constituido por un solo segmento de ARN de cadena simple y polaridad positiva, de aproximadamente 11 kb. El genoma viral expresa un precursor polipeptídico que a través de procesamientos co- y post-traduccionales produce las proteínas estructurales (C-prM-E) y no estructurales (NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5). Las propiedades inmunológicas y antigénicas del virus están dadas principalmente por los antígenos E (glicoproteína de la envoltura, contra la cual se generan los anticuerpos neutralizantes) y NS1 (glicoproteína no estructural 1, participa en la replicación del genoma viral y es un factor de virulencia).

Hasta la fecha se han identificado cuatro serotipos de virus (DENV-1, 2, 3, 4), aunque recientemente se ha reportado un caso con un nuevo serotipo, DENV-5, en Malasia. Estos serotipos son genéticamente similares y comparten aproximadamente el 65% de sus genomas. Sin embargo, cada serotipo es antigénicamente diferente, lo que implica que provoca una respuesta inmune específica de por vida mediante la producción de anticuerpos heterólogos.

Vector y modo de transmisión del DENV

Este virus se transmite principalmente por mosquitos del género *Aedes*, en particular *Aedes aegypti* y, en menor medida, *Aedes albopictus*.

Las hembras de *Aedes* adquieren el virus a partir de un huésped virémico, luego de un periodo promedio de incubación extrínseca de 10 días, el mosquito es capaz de transmitir el virus a un huésped susceptible. El ciclo continúa cuando el mosquito pica a una persona sana, en cuyo proceso regurgita saliva llena de virus a la sangre de este nuevo hospedero. En los humanos picados por un mosquito infectado, los síntomas de enfermedad aparecen generalmente después de un período de incubación intrínseca de tres a siete días (*Figura 2*).

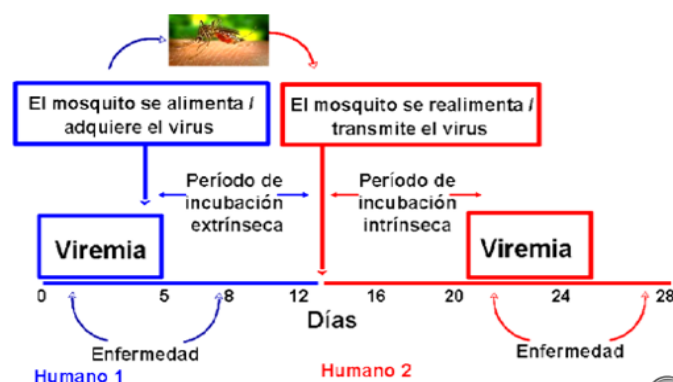


Figura 2. Ciclo de transmisión de DENV

En los seres humanos, el virus circula libre por el plasma y entra en contacto con células susceptibles, tales como células endoteliales, macrófagos, monocitos y otras células del sistema fagocítico mononuclear. A través de la sangre se replica en diversos órganos diana, por ejemplo, tejido linfoide e hígado.

Por otra parte, se ha comprobado la transmisión transovárica, donde el mosquito hembra infectado transmite el virus a su progenie, dando lugar a larvas que serán mosquitos infectivos sin tener que pasar por el ciclo de infección.

Epidemiología

Anualmente, se estima que ocurren entre 100 y 400 millones de infecciones por DENV. De estas infecciones, más del 80% son generalmente leves o asintomáticas, como resultado, el número real de casos tiende a estar sub notificado y algunos son mal diagnosticados. En nuestro país, el dengue es una enfermedad de notificación obligatoria, lo que significa que todos los casos deben ser reportados al Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA). Según los datos registrados durante la temporada 2023/2024 (desde la semana epidemiológica 31/2023 hasta la semana epidemiológica 16/2024), se reportaron 396.484 casos de dengue. De estos casos, el 91% fueron autóctonos, el 7% estuvieron bajo investigación y el 2% fueron casos importados. A su vez, se clasificaron 871 casos como dengue grave (0,2%) y se registraron 280 fallecimientos (letalidad del 0,071%).

Durante el mismo período, en la provincia de Santa Fe se confirmaron 47.432 casos de dengue, notificados al Sistema Nacional de Vigilancia de Salud (SNVS). Además, fueron notificados al Sistema de Información de Centros de Atención Primaria (SICAP) 7841 casos, sumando un total de 55273 casos confirmados, tanto por laboratorio como por criterio clínico-epidemiológico. En Argentina, los serotipos que circulan son mayoritariamente DENV-1 (43,01%) y DENV-2 (56,89%).

Patogenia

En la primoinfección, el virus ingresa a través de la epidermis y dermis, donde las células dendríticas lo reconocen y activan tanto linfocitos T como B. La proteína NS1 del virus es detectada por receptores Toll y TLR, desencadenando la liberación de citoquinas proinflamatorias. Una vez en el torrente sanguíneo, el virus es fagocitado por monocitos, que liberan más citoquinas, interleucinas y factor de necrosis tumoral. Esta respuesta inmune activa el reclutamiento de células inmunes que eliminan las

células infectadas y los viriones, pero también puede dañar las células endoteliales, provocando extravasación de fluidos y una disminución de plaquetas por su consumo en la reparación del tejido.

En contraste, durante una reinfección con un serotipo diferente, la presencia de anticuerpos no neutralizantes de infecciones previas puede agravar la respuesta inmune. Los viriones se unen a estos anticuerpos específicos de otro serotipo, formando complejos. Estos complejos son reconocidos por los receptores

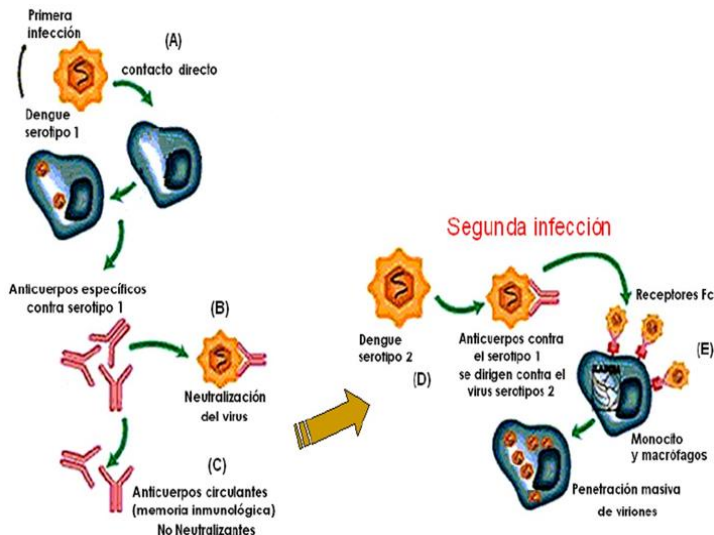


Figura 3. Patogenia DENV.

de la porción Fc de los anticuerpos en las células, lo que estimula la autofagia y permite al virión utilizar la membrana doble formada para replicarse y madurar, aumentando la producción viral y la intensidad de la respuesta inflamatoria pudiendo provocar la forma grave de la enfermedad (Figura 3).

Manifestaciones clínicas

El dengue puede presentarse de manera asintomática o causar una enfermedad de diversa gravedad. Después de un período de incubación de 3 a 14 días, pueden surgir manifestaciones clínicas. Las infecciones sintomáticas varían desde cuadros febriles agudos y leves hasta formas graves. Las manifestaciones clínicas se dividen en tres etapas: febril, crítica y de recuperación.

-Etapas de Evolución del Dengue:

1. **Etapa Febril:** Dura entre 3 a 7 días. Se caracteriza por fiebre alta, dolor muscular y articular, cefalea, astenia, exantema pruriginoso y síntomas digestivos leves. Es común la leucopenia, trombocitopenia y aumento de transaminasas. Puede haber manifestaciones hemorrágicas leves.
2. **Etapa Crítica:** Coincide con la caída de la fiebre, periodo de mayor riesgo de complicaciones. Caracterizada por extravasación de plasma que puede llevar a un shock hipovolémico y complicaciones graves como hemorragias masivas, falla multiorgánica y distrés respiratorio. La detección de la

aparición de signos de alarma es esencial durante las 48 h posteriores a la caída de la fiebre, entre ellos se destacan: dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, derrame seroso, sangrado de mucosas, cambios en el estado mental, hepatomegalia, aumento brusco del hematocrito y disminución rápida de plaquetas.

3. **Etapas de recuperación:** El paciente comienza a mejorar con el incremento de plaquetas. También pueden surgir complicaciones, como sobrecarga de volumen, infecciones bacterianas secundarias, exantema tardío con prurito.

-Clasificación de la enfermedad

Se clasifica en 4 categorías basadas en la presencia de signos de alarma y comorbilidades.

-Dengue sin signos de alarma ni comorbilidad: Los pacientes pueden ser tratados de forma ambulatoria.

-Dengue con comorbilidad: Se consideran factores como embarazo, edad avanzada o enfermedades crónicas. Según la situación del paciente, el tratamiento ambulatorio puede o no ser adecuado.

-Dengue con signos de alarma: Incluye síntomas como dolor abdominal severo, vómitos persistentes o sangrado. Estos casos requieren referencia hospitalaria.

-Dengue grave: Se caracteriza por complicaciones como shock hipovolémico, dificultad respiratoria por acumulación de líquidos en los pulmones, hemorragias graves, o daños en órganos como el hígado, cerebro o corazón. Estos pacientes necesitan atención hospitalaria intensiva.

Neuropatogénesis

La infección por el DENV puede provocar diversas complicaciones neurológicas, clasificadas en tres categorías principales:

1. Alteraciones metabólicas: Incluyen fenómenos como la encefalopatía.
2. Invasión viral: Puede causar varias condiciones neurológicas, como **encefalitis**, romboencefalitis, meningitis, miosis, mielitis y **cerebelitis**.
3. Reacciones autoinmunes: Incluyen ADEM (encefalomielitis aguda desmielinizante), neuritis óptica y el síndrome de Guillain-Barré.

El mecanismo se centra en la neuroinflamación. El antígeno NS1 del virus actúa como un cofactor en la replicación del ARN viral, promoviendo la liberación de citoquinas proinflamatorias que activan células inmunitarias. Esta activación genera una cascada

inflamatoria que compromete la barrera hematoencefálica, facilitando la entrada de mediadores inmunitarios al cerebro y provocando neuroinflamación.

-Encefalitis: La encefalopatía y la encefalitis son complicaciones neurológicas significativas del dengue, con una incidencia estimada que varía entre el 0,5% y el 6,2%. Se caracteriza por una variedad de manifestaciones clínicas y de laboratorio, que incluyen: niveles alterados de conciencia o personalidad, convulsiones, signos neurológicos focales, presencia de anticuerpos IgM reactivos contra el dengue, presencia de Ag NS1 o detección del virus por métodos moleculares en suero y/o LCR o por exclusión de otras causas de encefalitis viral o encefalopatía. Si bien la temperatura corporal elevada, hematocrito elevado, trombocitopenia, erupción cutánea y disfunción hepática son manifestaciones frecuentes en una infección por virus del dengue, estas son independientes a las manifestaciones neurológicas.

-Cerebelitis: Síndromes cerebelosos que pueden surgir durante la fase aguda de la infección o semanas después, siendo generalmente autolimitados.

Diagnóstico

El diagnóstico del DENV se considera un evento de notificación obligatoria dentro de los síndromes febriles inespecíficos. Para llevar a cabo este diagnóstico, la muestra debe venir acompañada de la ficha epidemiológica completa, lo cual es un requisito para dar inicio al algoritmo diagnóstico. Esta ficha incluye datos esenciales como identificación del paciente, fecha de inicio de síntomas, fecha de toma de muestra, información de contacto, comorbilidades y antecedentes de laboratorio.

El enfoque diagnóstico varía según el estadio de la enfermedad en el paciente y el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas y la toma de muestra. (Figura 4).

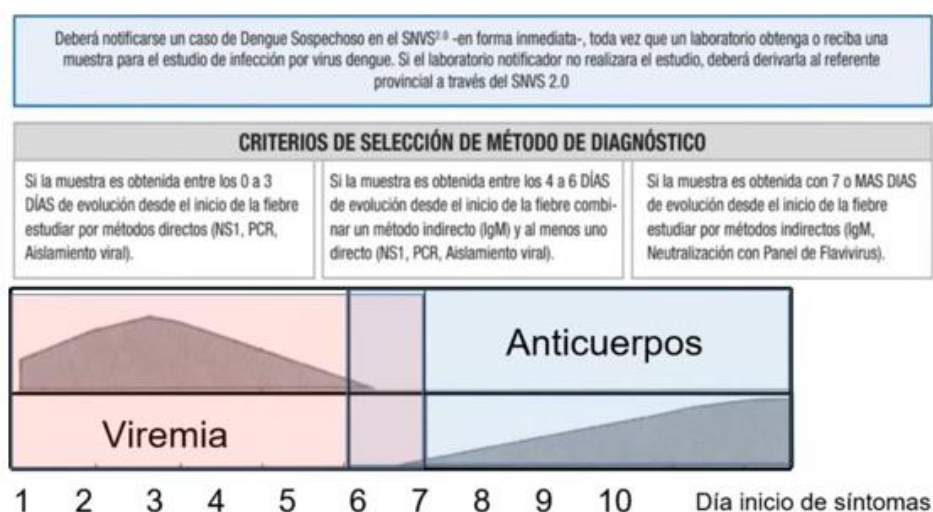


Figura 4. Algoritmo diagnóstico DENV

- Si la muestra (suero LCR o tejidos) es obtenida ANTES del 6º día de evolución de los síntomas se utiliza metodología directa para detectar la presencia del genoma viral:
 - **Detección de Ag NS1:** La glicoproteína no estructural se libera durante las infecciones y se acumula en suero en altas concentraciones. Se puede detectar por distintos formatos como test rápido (Método inmunocromatográfico) y ELISA comercial (Método enzimático en microplacas).
 - **RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR):** Método molecular para detectar la presencia del genoma viral mediante la amplificación en tiempo real de todos los serotipos ya que se amplifica la región conservada. (panDV RT-PCR)
 - **Serotipificación con RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR):** Método desarrollado y validado por el CDC que utiliza cebadores y sondas que permiten la detección e identificación de los distintos serotipos de DENV-1-4 de forma simultánea.
 - **Aislamiento viral:** La presencia del DENV se evidencia a través de la observación del efecto citopático sobre el cultivo celular y se confirma, 10 días post-inoculación, con anticuerpos específicos de serotipo por IFI. Son realizadas solo en laboratorios de referencia..
 - **Secuenciación:** Se utiliza como metodología de referencia, no para fines diagnósticos.
- Si la muestra (Suero, LCR o tejidos) es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución de los síntomas se combina una metodología indirecta (IgM) con al menos un método directo.
- Si la muestra es obtenida con 7 o MÁS DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre se deben realizar métodos indirectos para identificar la presencia de anticuerpos:
 - **Test rápido IgG/IgM:** Método inmunocromatográfico que detecta la presencia de Ac IgG a-DENV y Ac IgM a-DENV en un mismo kit.
 - **ELISA IgM:** Este ensayo tiene una elevada sensibilidad y especificidad. La detección de Acs IgM anti-DENV indica una infección activa o reciente.

- **ELISA IgG:** Los ensayos de ELISA para la detección de anticuerpos IgG contra el antígeno del dengue en el suero permiten inferir si se trata de una infección primaria o una infección secundaria por DENV.
- **Técnica de neutralización por reducción de placas:** permite la detección de Ac neutralizantes al DENV (IgG anti-DENV), requiere de muestras de sueros pareadas en los casos sospechosos y son realizadas solo en laboratorios de referencia.

Es crucial considerar la clínica y la información detallada del paciente al tomar decisiones diagnósticas. Por ejemplo, las pruebas de RT-PCR pueden realizarse en muestras de orina después de la fase virémica (7 días), ya que el genoma viral puede detectarse más allá de este período. Además, las pruebas de detección de anticuerpos pueden mostrar reacciones cruzadas debido a exposiciones previas a otros Flavivirus, ya sea por vacunación o infección previa. En casos sospechosos de complicaciones neurológicas por dengue, se recomienda realizar pruebas moleculares en muestras de LCR. También se pueden solicitar pruebas de detección de anticuerpos en casos de sospecha de infección secundaria por dengue. Las pruebas de detección de anticuerpos, Ag NS1 y el genoma del DENV pueden realizarse en forma secuencial o en paralelo si fuese necesario.

La realización e interpretación de las pruebas bioquímicas para diagnóstico de Dengue deben determinarse según el contexto epidemiológico de los arbovirus circulantes y la presentación clínica específica. Por lo tanto, el algoritmo propuesto debe ser flexible y adaptarse a las condiciones locales.

DISCUSIÓN

La paciente fue diagnosticada con una coinfección por los serotipos DENV-1 y DENV-2, confirmada mediante RT-PCR, tras presentar síntomas neurológicos y en el contexto de un brote significativo de dengue durante la temporada 2023/2024. Este brote se caracterizó por un aumento considerable en los casos y un inicio temprano comparado con otras temporadas, lo que sugiere una mayor circulación del vector y del virus, incrementando el riesgo de evolución y persistencia del DENV.

La falta de medidas preventivas efectivas en regiones tropicales y subtropicales ha contribuido a la diversidad genética del virus dengue, facilitando la aparición de genotipos más virulentos y la posibilidad de coinfecciones. Factores como la

urbanización descontrolada, la deficiencia en el saneamiento, y la falta de control de vectores, han favorecido la proliferación de criaderos de mosquitos *Aedes aegypti*, lo que resulta en un aumento de la circulación del virus. Esta situación incrementa el riesgo de exposición a múltiples serotipos, lo que puede explicar la rápida evolución del virus, las co-infecciones y la aparición de formas graves de la enfermedad.

La paciente resolvió a nivel de imagen el cuadro cerebeloso pero su clínica no mejora por lo que se le realiza seguimiento y rehabilitación. A su vez, como en el último control ambulatorio la paciente refirió incontinencia urinaria, se debe descartar que esté cursando un cuadro post infeccioso de mielitis transversa que genere la persistencia de los síntomas lo cual debe ser confirmado con resonancia magnética de columna total y búsqueda de anticuerpos específicos para ver opción de tratamiento.

CONCLUSIÓN

Las complicaciones neurológicas por dengue están presentes hasta en un 10% de los pacientes. A pesar de que la fisiopatología no se comprende completamente, se reconoce el carácter neurotrópico del virus, el cual puede afectar el SNC mediante invasión directa, procesos inmunomediados y efectos tóxicos-metabólicos.

El síndrome cerebeloso se manifiesta con síntomas como nistagmo, disartria y ataxia, los cuales tienden a resolver espontáneamente en 2-3 semanas y/o meses. Las neuroimágenes de cráneo suelen presentar nulas o pocas alteraciones inespecíficas y el diagnóstico se confirma mediante métodos moleculares o anticuerpos IgM en LCR. Si bien son frecuentes los casos de infección consecuente por diversos serotipos, lo cual predispone a manifestaciones neurológicas severas, no existen publicaciones acerca del comportamiento de casos de coinfección por distintos serotipos, lo que podría justificar una evolución alejada a lo esperado en las patologías neurológicas desarrolladas.

Presentamos este reporte de cerebelitis por coinfección de dos serotipos circulantes de dengue, resaltando la importancia de la sospecha clínica, dirigida por el contexto epidemiológico local, para lograr un diagnóstico etiológico adecuado.

PERSPECTIVAS

Es crucial educar a los pacientes y sus comunidades sobre la importancia del control del mosquito Aedes para prevenir la reinfección por el virus del dengue. Dado que los huevos de estos mosquitos pueden sobrevivir durante meses, incluso en invierno, la fumigación y el uso de repelentes no son suficientes. Además de estas medidas, se recomienda realizar un descacharrado general en los hogares para eliminar potenciales criaderos. La participación activa de la comunidad es esencial para eliminar criaderos y adoptar comportamientos preventivos.

La recomendación de la vacuna contra el dengue en pacientes ya infectados debe ser cuidadosamente considerada. La vacuna disponible en Argentina -y autorizada por la ANMAT en 2023- es la vacuna Qdenga® del Laboratorio Takeda. Es una vacuna tetravalente que se administra en dos dosis con un intervalo de 3 meses. Brinda protección contra los cuatro serotipos del dengue y está destinada para mayores de 4 años (y sin límite de edad) que hayan tenido o no la infección. Está contraindicada en embarazadas, mujeres en período de lactancia y en pacientes con inmunocompromiso.

Por otro lado, durante los brotes de dengue, es importante considerar al virus como un posible agente etiológico de patologías con compromiso a nivel del SNC. Además, se debe tener en cuenta que los signos y síntomas indicativos de infección por DENV son independientes de las complicaciones neurológicas que puede causar. Por esto, se requiere por parte de los profesionales de la salud realizar una evaluación exhaustiva con el fin de diagnosticar y brindar una respuesta clínica oportuna y adecuada.

Se podría investigar más a fondo la posible asociación entre el dengue grave y las coinfecciones en puérperas. La coinfección puede complicar el cuadro clínico y aumentar la gravedad de la enfermedad, por lo que es crucial entender mejor esta relación para mejorar las estrategias de manejo y tratamiento en este grupo de pacientes.

Específicamente, en el caso de la paciente, se debe esperar a que su cuadro clínico se resuelva antes de considerar la vacunación contra el dengue. La paciente presenta una coinfección lo que le ha permitido desarrollar la capacidad de producir anticuerpos contra ambos serotipos de por vida. Esto es relevante, ya que, en este caso los serotipos involucrados serían los que más circulan en Argentina, por esto, debe evaluarse si en este caso es recomendada la vacunación.

BIBLIOGRAFÍA

- Dengue en niños y adultos: Diagnóstico, manejo clínico y vacunas. Webinars SAV https://www.youtube.com/live/pDHWa_UFC9g?si=uiDDfUPzQTegz4XS (2024).
- Material provisto por la cátedra de Virología durante el cursado de la asignatura.
- Boon Hui Kok, Hui Ting Lim, Chin Peng Lim, Ngit Shin Lai, Chiuan Yee Leow, Chiuan Heng Leow. "Dengue virus infection - a review of pathogenesis, vaccines, diagnosis and therapy-". El Sevier <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.199018> (2023).
- Marzia Puccioni-Sohler, Cristiane Nascimento Soares, Paulo Pereira Christo, Sérgio Monteiro de Almeida. "Review of dengue, zika and chikungunya infections in nervous system in endemic areas". Arquivos de neuropsiquiatria. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1777104> (2023).
- Srijan Singh, Jubara Alallah, Astha Amrit, Akhil Maheshwari, Suresh Boppana. "Neurological Manifestations of Perinatal Dengue". Newborn (Clarksville) [10.5005/jp-journals-11002-0066](https://doi.org/10.5005/jp-journals-11002-0066) (2023).
- Sirisena, Shakuntala Mahilkar, Chetan Sharma, Jaspreet Jain & Sujatha Sunil. "Concurrent dengue infections: Epidemiology & clinical implications". Indian Journal of medical Research. [10.4103/ijmr.IJMR_1219_18](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1219_18) (2021).
- Sweetey Trivedi, Ambar Chakravarty. "Neurological Complications of Dengue Fever" Current Neurology and Neuroscience Reports <https://doi.org/10.1007/s11910-022-01213-7>. (2022).
- Boletín Epidemiológico Nacional Semana 16. "Dirección epidemiológica. Ministerio de Salud República Argentina". (2024).

Cohorte 2024

Trabajos Finales - Práctica
Profesional Obligatoria (PPO)

Carrera de Bioquímica

*Facultad de Ciencias Bioquímicas y
Farmacéuticas (FBIOyF - UNR)*

Este libro reúne los Trabajos Finales 2024, realizados en el marco de la Práctica Profesional Obligatoria (PPO) de la carrera de Bioquímica. Cada producción refleja el acompañamiento académico de los docentes y la colaboración de profesionales co-formadores. Esta publicación es testimonio del compromiso académico, profesional y humano de nuestra comunidad educativa y de las instituciones cooperantes.

 CC BY-NC-ND 4.0