

**20
25**

TRABAJOS FINALES

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA (PPO)

CARRERA DE BIOQUÍMICA



Universidad
Nacional
de Rosario

Carrera de Bioquímica

Ciclo de Formación Profesional

Práctica Profesional Obligatoria (PPO)

Trabajos Finales

Cohorte 2025

Responsables:

Dr. Maximiliano Sortino

Dra. Arianna Pratti

Dra. María Alejandra Ensínck

Dra. Stella Mattaloni

Dra. Laura Colombo

Asignatura: Práctica Profesional Obligatoria (PPO)

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario
<https://www.fbioyf.unr.edu.ar/>

2025



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

Imagen de cubierta y contratapa: Tinción de células epiteliales vistas al microscopio.
Fotografía de Zaksheuskaya <https://www.pexels.com/es-es/foto/arte-creativo-modelo-estampado-4391607/>

Organización, compilación, diseño y maquetación:

Dra. Patricia Marchiaro (Área Bacteriología)

Bioq. Esp. María Susana Díaz (Área Bacteriología)

Lic. Fernando Díaz Pacífico (Biblioteca Hipólito González)

Índice

Introducción	i
Tutores académicos	iii
Evaluable académicos	iv
Perfil Epidemiológico de Pacientes con Niveles Alterados de Insulina que asistieron a un Laboratorio Bioquímico de la ciudad de Rosario durante el período Mayo 2024 – Mayo 2025	4
Importancia del laboratorio en el diagnóstico y seguimiento de la Enfermedad de Crohn en pediatría	16
Prevalencia de anemia ferropénica en pacientes del Hospital Provincial del Centenario.	29
Exposición prenatal a cocaína: prevalencia y alternativas metodológicas	38
Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido por Incompatibilidad RhD: Estudio de Caso y Abordaje Inmunohematológico	51
TACROLIMUS: usos, presentaciones y determinación	62
El ADN como prueba de identidad: la Biología Molecular aplicada al estudio de los vínculos biológicos	75
Estrategias diagnósticas y análisis epidemiológico del Dengue en Rosario: Temporada 2024/2025	86
Mieloma múltiple: el rol del laboratorio en su diagnóstico, seguimiento y tratamiento	95
Importancia del laboratorio bioquímico en el abordaje de una neoplasia ginecológica oculta	107
Estudio de Alergias en el Laboratorio Clínico	118
Caso clínico: Infección por Parvovirus B19 en paciente con Esferocitosis Hereditaria	132
Paciente en situación de calle con Tuberculosis, su tratamiento y complicaciones.	143
Caso clínico: Dermatomiositis juvenil	159
Importancia de las fichas epidemiológicas en el diagnóstico de dengue	172
Aplicación de ROTEM en cirugía cardiovascular pediátrica	184
Manejo de pacientes por enfermedades de transmisión sexual en el Hospital “Intendente Gabriel Carrasco” de Rosario.	198

Pseudotrombocitopenia inducida por Ácido Etilendiaminotetraacetato (Edta)	211
Plasma rico en plaquetas y su aplicación en el campo de la medicina estética	222
La piel como pista diagnóstica: fusariosis en paciente oncohematológico con neutropenia febril	234
Análisis comparativo de los medios diferenciales CLDE y Chromagar para urocultivos en una cohorte de pacientes internados en el HECA	247
<i>Lodderomyces elongisporus</i> : Transmisión intrahospitalaria y dificultad diagnóstica.	260
Estudio de vigilancia de portación de bacterias patógenas en salas críticas del Hospital Provincial del Centenario	272
Aporte del urocultivo al diagnóstico de infecciones genitales	285
Descripción de métodos de análisis automatizados utilizados para el diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM) en un laboratorio de Rosario	295
El proteinograma por electroforesis como apoyo diagnóstico a diversas patologías	311
Toxoplasmosis cerebral en un paciente HIV no tratado y en situación de vulnerabilidad social: un desafío multifactorial	325
Impacto del abuso de esteroides anabólicos androgénicos sobre la salud reproductiva masculina	338
Comparación de tres métodos para detección fenotípica de BLEE y carbapenemasas en hisopados de vigilancia rectal	352
Estudio de caso clínico de Fiebre Hemorrágica Argentina: diagnóstico, evolución y tratamiento	367
Evaluación del control de calidad interno y externo en el área de Química Clínica del laboratorio del CEMAR	380
Métodos automatizados de identificación bacteriana y sensibilidad a los antimicrobianos en el laboratorio de microbiología clínica.	393
Calibración y determinación de la heparinemia como actividad anti-Xa en un paciente pediátrico con soporte ECMO	407
Rol del bioquímico en la detección de bacterias multirresistentes	419
Metodología: Tamizaje de muestras en laboratorio	423
El laboratorio del síndrome antifosfolipídico, en un efector privado de Rosario.	432
Histoplasmosis: aplicación de métodos de laboratorio clínico para el diagnóstico dentro de un área endémica	447

Estudio de un paciente con cáncer de cola de páncreas	460
Paternidad tardía	470
Tos que alerta, laboratorio que confirma: infección por Bordetella pertussis en lactante	481
Cuantificación plasmática de Emicizumab para el monitoreo de pacientes con Hemofilia A con y sin inhibidores	493

Introducción

La Práctica Profesional Obligatoria, asignatura del ciclo de Formación Profesional de la carrera de Bioquímica, permite la consolidación de contenidos por parte del estudiante ya que se desarrolla en ámbitos hospitalarios dependientes de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR (HPC, HEEP) y en el contexto de convenios marco, en diversos efectores municipales, provinciales y laboratorios privados.

Los contenidos curriculares incluyen los procesos en sus diferentes etapas: preanalítica, analítica, postanalítica y sistemas de denuncias obligatorias, capacitando al futuro profesional para la intervención en la toma de muestra, la realización de las prácticas bioquímicas, la interpretación de resultados con capacidad crítica y con conocimientos de bioseguridad, control de calidad, auditoría bioquímica y de gestión.

La Práctica Profesional Obligatoria tiene como objetivo introducir al estudiante en el ejercicio profesional en ámbitos hospitalarios y privados, bajo un sistema educativo programado y supervisado por la unidad académica. De esta manera los objetivos específicos incluyen:

- Realizar prácticas de toma de muestras, realización de análisis y adquirir herramientas para la validación de los protocolos de laboratorio.
- Ser parte de un equipo de trabajo existente y adaptarse a la organización del mismo.
- Aplicar los conocimientos adquiridos durante el cursado y lograr integrarlos en la tarea de laboratorio.
- Diseñar y desarrollar un trabajo final que refleje los conocimientos y experiencia adquiridos, que formará parte de la evaluación del estudiante.

Este libro reúne los Trabajos Finales de los estudiantes que completaron la Práctica Profesional Obligatoria (PPO) en distintos efectores públicos y privados de nuestra ciudad y el Gran Rosario. Los docentes de nuestra Facultad desempeñaron un papel clave como tutores académicos, supervisando y apoyando a los estudiantes durante sus prácticas. Su orientación fue decisiva en la creación y desarrollo de los trabajos finales, donde los alumnos reflejaron la experiencia adquirida. Igualmente, la activa participación de otros profesionales (o co-formadores) de cada laboratorio contribuyó significativamente en la formación de los estudiantes y la elaboración de estos trabajos.

Cada Trabajo Final se compone de dos instancias: la presentación de un documento escrito y la defensa oral del mismo. Los estudiantes de la cohorte 2025 defendieron sus trabajos mediante esta modalidad en la Jornada Educativa de la FCByF-UNR, en diciembre de 2025.

Es importante destacar que la modalidad de registro visual varía según el período de defensa:

En cuanto a la organización de esta publicación, se aclara que los primeros diez trabajos incluidos corresponden a defensas realizadas durante el primer cuatrimestre, instancia en la que la presentación se efectuó exclusivamente en formato oral. Por este motivo, esos trabajos no cuentan con póster asociado.

En los trabajos restantes, se incorpora tanto el trabajo escrito completo como el póster correspondiente, conforme a la modalidad de presentación prevista para esa instancia.

Tutores Académicos

Basiglio, Cecilia

Balbi, Bárbara

Boletti, Elisa

Bonavita, Daniele

Cavatorta, Ana Laura

Cerdán, María Celeste

Civerchia, Luciano

Colombo, Laura

Dalmaso, Hernán

Diviani, Romina

Ghersevich, Sergio

Hernández, Malén

Indelman, Paula

Malandra, Rocío

Marchetti, Candela

Marchiaro, Patricia

Maroni, Georgina

Martí, Belén

Martínez, Carolina

Mendiondo, Macarena

Micucci, Lorena

Munuce, María José

Orlandi, Florencia

Paggi, Federico

Pastore, Florencia

Pérez, Germán

Pérez, Jorgelina

Pezzarini, Eleonora

Pratti, Arianna

Pretto, Lautaro

Raviola Mariana

Rébola, Alfredo

Rinaudo, Mariángel

Rodríguez Araya, Elvio

Rossi, Juan

Schoepf, Victoria

Sorribas, Aranza

Supersaxco, Raúl

Evaluadores Académicos

Brandoni, Anabel
Bulacio, Lucía
Cerdan, María Celeste
Chouhy, Diego
Colombo, Laura
Dámaso, Hernan
David, Valeria
Diviani, Romina
Elena, Claudia
Ensinck, María Alejandra
Hernández, Malén
Indelman, Paula
Marchiaro, Patricia
Mattaloni, Stella
Mendiondo, Macarena
Molinas, Sara
Pratti, Arianna
Pretto, Lautaro
Ramadan, Silvana
Raviola, Mariana
Rodríguez, Cintia
Rubíes, Georgina
Schoepf, Victoria
Sorribas, Aranza
Supersaxco, Raúl

Práctica Profesional Obligatoria - PPO

Trabajo Final

Año 2025



**Perfil Epidemiológico de Pacientes con Niveles
Alterados de Insulina que asistieron a un Laboratorio
Bioquímico de la ciudad de Rosario durante el
período Mayo 2024 – Mayo 2025**

Autoras:

- Sauer, Florencia
- Suarez, Micaela

Tutora:

- Dra. Basiglio, Cecilia L.

Efectores:

- Laboratorio Bioquímico del Sanatorio Americano

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades metabólicas crónicas más prevalentes del mundo, aproximadamente el 90% de los casos corresponden a diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Se caracteriza por cursar con elevados valores de glicemia de forma persistente cuando el tratamiento es inadecuado, lo cual resulta nocivo para el paciente ya que puede generarle complicaciones tanto agudas como crónicas (a nivel micro y macrovascular), llevando a un deterioro de la calidad de vida y a una muerte prematura.

La DM2 se reconoce como un problema grave de salud pública a nivel mundial, con un impacto considerable en la vida humana y los gastos de salud, que afecta las capacidades funcionales y la calidad de vida de las personas, por lo cual es esencial el control de la glicemia. Esto refleja la importancia del laboratorio bioquímico en el seguimiento del tratamiento de la DM, trabajando de forma interdisciplinaria con el equipo médico y no médico que acompañan al paciente.

OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar el perfil clínico y bioquímico de pacientes ambulatorios con hiperinsulinemia que fueron atendidos por consultorio externo en el Sanatorio Americano de la ciudad de Rosario, durante el período de Mayo 2024 - Mayo 2025, con el fin de identificar la prevalencia de los factores asociados a la resistencia a la insulina y riesgo cardio-metabólico.

Objetivos específicos

- Realizar un análisis de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio con el fin de identificar datos antropométricos y bioquímicos de interés.
- Describir los valores de insulinemia, glicemia en ayunas e índice HOMA-IR (del inglés “modelo de evaluación de la homeostasis”) de los pacientes con hiperinsulinemia.
- Identificar la presencia de antecedentes personales relevantes (DM2, dislipemia, hipertensión arterial, obesidad) y relacionarlos con la insulinemia.
- Clasificar a los pacientes según criterios de síndrome metabólico (SM) y estimar su prevalencia dentro del grupo estudiado.

MARCO TEÓRICO

La **DM2** es consecuencia de una pérdida progresiva de la secreción de insulina por parte de las células β en el contexto de la resistencia a la insulina. Estas dos condiciones conducen a que el paciente desarrolle hiperglicemia de forma gradual y oligosintomática, lo cual retrasa el diagnóstico.

En las personas con diabetes, la principal causa de morbilidad y mortalidad son las enfermedades de origen aterosclerótico, dentro de las que se encuentran la enfermedad coronaria, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial periférica.

Los factores de riesgo para el desarrollo de estas complicaciones son la obesidad/sobrepeso, la hipertensión, la dislipidemia, el tabaquismo, los antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura, la enfermedad renal crónica y la presencia de albuminuria. Se deben evaluar al menos una vez al año todos los parámetros que permitan hacer un seguimiento del estado del paciente, para poder establecer estrategias para prevenir y controlar las complicaciones anteriormente mencionadas.

La **insulina** es una hormona polipeptídica, anabolizante, que ejerce un efecto pleiotrópico, el cual es mediado por el receptor de insulina, un receptor de membrana, que tiene actividad tirosina quinasa. Cuando la insulina se une a su receptor, se produce la autofosforilación del mismo y la fosforilación de sustratos específicos, iniciándose la señalización intracelular, que da como resultado la inserción del transportador GLUT4 en la membrana plasmática con el consecuente incremento de la captación de glucosa por parte del músculo y el tejido adiposo.

La **resistencia a la insulina (RI)** es un fenómeno complejo, caracterizado por una respuesta disminuida de los tejidos periféricos (adiposo, muscular y hepático) a la acción de la insulina, lo cual provoca una secreción aumentada de insulina por parte de las células β del páncreas para mantener en la normalidad los niveles de glucemia. La RI suele preceder a situaciones patológicas como la DM2, la obesidad y el SM.

En la **obesidad**, la acumulación de grasa en los adipocitos induce una gran expansión del tejido adiposo blanco que demanda una serie de cambios estructurales en los adipocitos y en la matriz extracelular, siendo la inflamación una consecuencia de la respuesta a tal demanda. El tejido adiposo es, además de un almacén de energía, un órgano endócrino ya que produce una gran cantidad de adipoquinas y citoquinas que pueden actuar modulando la sensibilidad a la insulina.

La obesidad, concretamente la de localización visceral, es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de RI y DM2. Los efectos locales y sistémicos de la acción endócrina del tejido adiposo culminarían en la RI.

El índice **HOMA-IR** es un procedimiento simple, poco invasivo y que, mediante una fórmula validada, genera un valor numérico que permite evaluar la presencia de resistencia a la insulina.

$$HOMA = \frac{Glucosa (mg/dl) \times Insulina (\mu U/ml)}{405}$$

HOMA > 3 → 95% de probabilidad de tener o desarrollar RI

El **SM** es un estado fisiopatológico crónico y progresivo, que comprende un grupo de factores de riesgo como obesidad, RI, hipertensión y dislipidemia principalmente, que se asocia con un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular (ECV), DM2 y otros desórdenes relacionados.

El Adult Treatment Panel III (ATP-III) establece el diagnóstico de SM frente a tres o más de los siguientes hallazgos:

- Obesidad abdominal (circunferencia de cintura >102 cm en hombres; >88 cm en mujeres).
- Hipertrigliceridemia (> 150 mg/dl).
- c-HDL bajo (< 40 mg/dl en hombres; < 50 mg/dl en mujeres).
- HTA (> 130/85 mmHg).
- Glucemia en ayunas elevada (> 110 mg/dl).

La **estrategia terapéutica** para la DM2 se centra en la toma de medidas higiénico-dietéticas que permitan reducir la obesidad (lo cual disminuye la RI) y mejorar los valores del perfil lipídico, renal y cardiovascular. El tratamiento de la DM2 puede requerir la combinación de estas medidas primarias con tratamiento farmacológico con hipoglucemiantes orales (como metformina) y en algunos casos, con insulina exógena.

RESULTADOS

Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal de los pacientes ambulatorios que asistieron al consultorio externo del Sanatorio Americano para realizarse la determinación de sus niveles de insulina, durante el período comprendido entre mayo 2024 y mayo 2025.

En primer lugar, y teniendo en cuenta los resultados de insulinemia de este período, se obtuvieron inicialmente 914 datos, de los cuales se seleccionaron aquellos que se encontraban por encima del límite superior del valor de referencia (VR: 3.0 - 35.0 μ U/ml, medido por ECLIA), obteniéndose 51 datos (Figura 1).

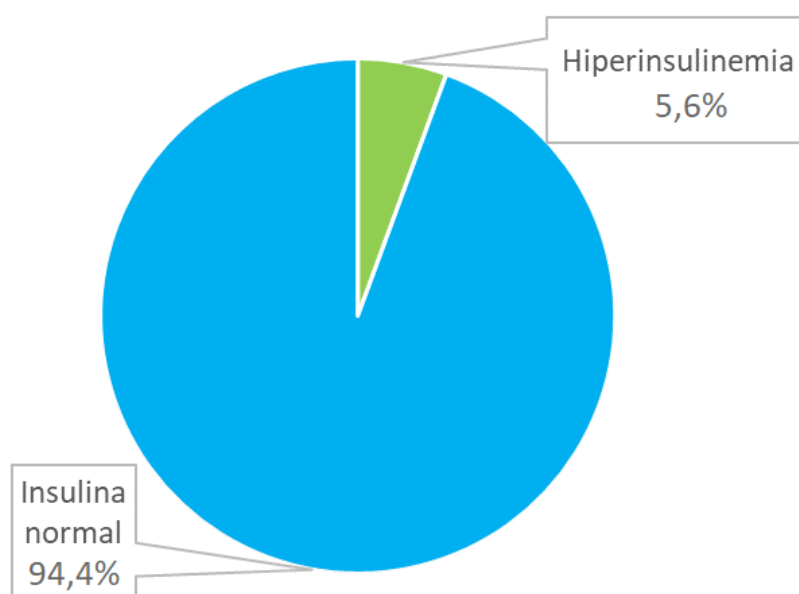


Figura 1. Porcentaje de pacientes con hiperinsulinemia.

51 de 863 (5,6%) pacientes presentaron hiperinsulinemia.

Simultáneamente, se identificaron los resultados de las determinaciones de glicemia (medida por método enzimático GOD-POD, VR: 70-110 mg/dl) y de índice HOMA-IR (VR: < a 3) correspondientes al mismo día, para cada paciente con hiperinsulinemia. En los casos en que no se contaba con este último, se calculó mediante la fórmula previamente mencionada.

Además, se analizaron las historias clínicas de cada paciente y se registraron los datos de patologías asociadas: obesidad, hipertensión arterial, dislipemia y SM. En los casos en que no se hacía mención de SM, pero el paciente cumplía con los criterios diagnósticos definidos

por ATP III (que se mencionan más arriba), se los incluyó dentro de ese grupo. También, se tomó registro del tratamiento farmacológico de cada uno de estos pacientes.

Al evaluar el porcentaje de pacientes con hiperglicemia dentro del conjunto analizado, se detectó un 37,3% de pacientes con esta condición (Figura 2). Este hallazgo refuerza la asociación entre hiperinsulinemia y alteraciones en el metabolismo de la glucosa, lo cual podría indicar un estado prediabético o un diagnóstico de diabetes tipo 2 en etapa inicial.

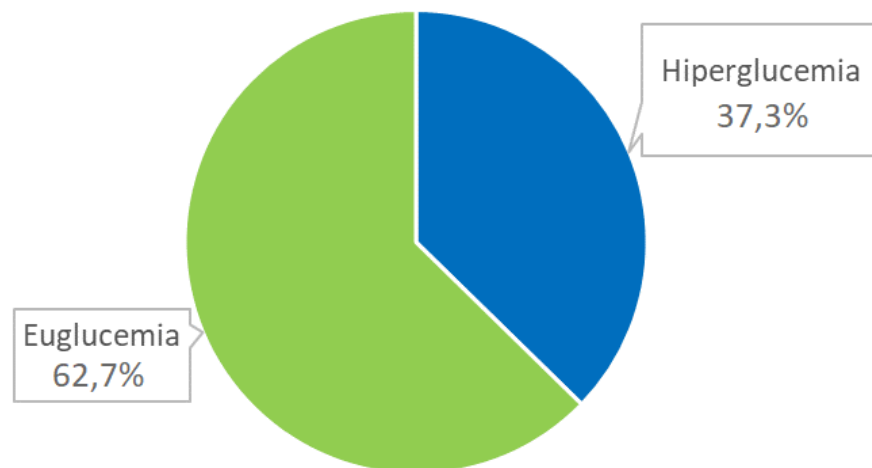


Figura 2. Pacientes con hiperinsulinemia e hiperglucemia.

15 de los 51 pacientes (37,3%) presentaron hiperglucemia.

En cuanto a la hipertensión, se observaron 17 pacientes con esta condición, representando un 33,3% (Figura 3).

Este dato resalta el vínculo entre la resistencia a la insulina y la presión arterial elevada, factores que suelen coexistir en el contexto del síndrome metabólico.

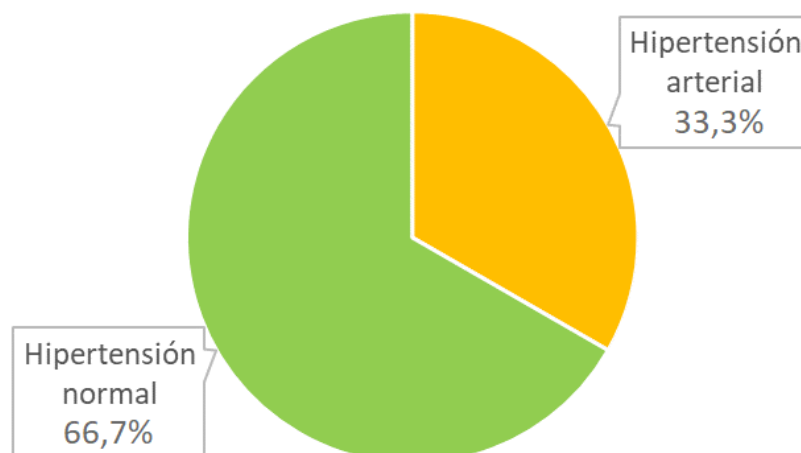


Figura 3. Pacientes con hiperinsulinemia e hipertensión.

17 de los 51 pacientes (33,3%) presentan antecedentes de hipertensión arterial.

Al evaluar la obesidad, se observó que un 62,7 % de pacientes presentan esta condición (Figura 4).

Considerando que el tejido adiposo, especialmente el visceral, desempeña un papel central en la fisiopatología de la resistencia a la insulina, esta proporción resulta consistente con lo descrito en la literatura y evidencia el valor predictivo de la obesidad como factor de riesgo.

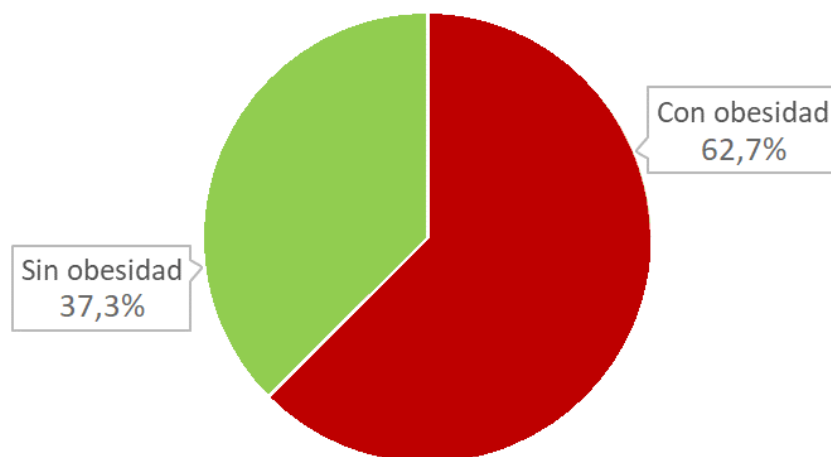


Figura 4. Pacientes con hiperinsulinemia y obesidad.

32 de 51 pacientes (62,7%) presentan antecedentes de obesidad.

En cuanto a la dislipemia, 16 pacientes (31,4%) presentaron dicha alteración, evidenciada por alteraciones en el perfil lipídico informado en sus historias clínicas (Figura 5).

Esta asociación permite visualizar una carga aterogénica importante en este grupo, incrementando el riesgo cardiovascular a mediano y largo plazo.

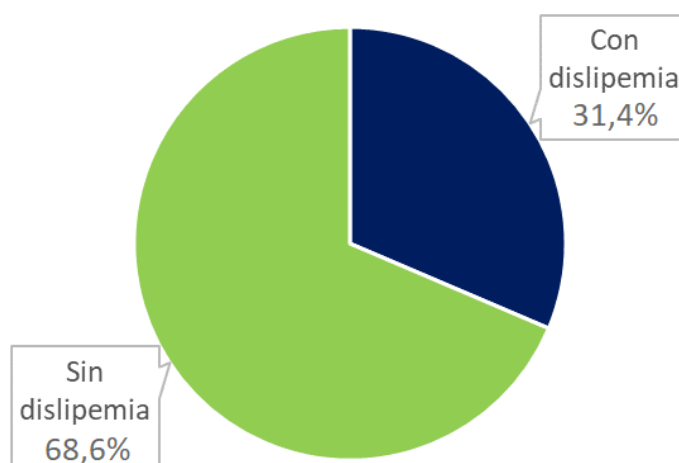


Figura 5. Pacientes con hiperinsulinemia y dislipemia.

16 de 51 pacientes (31,4%) presentan antecedentes de dislipemia.

En relación al SM, se clasificaron a 21 pacientes dentro del grupo con este diagnóstico (41,2%), ya sea porque constaba en su historia clínica o porque cumplían con al menos tres de los criterios establecidos por ATP III (Figura 6).

Cabe destacar que este porcentaje podría estar subestimado, debido a la falta de registro completo de algunos parámetros clínicos y antropométricos.

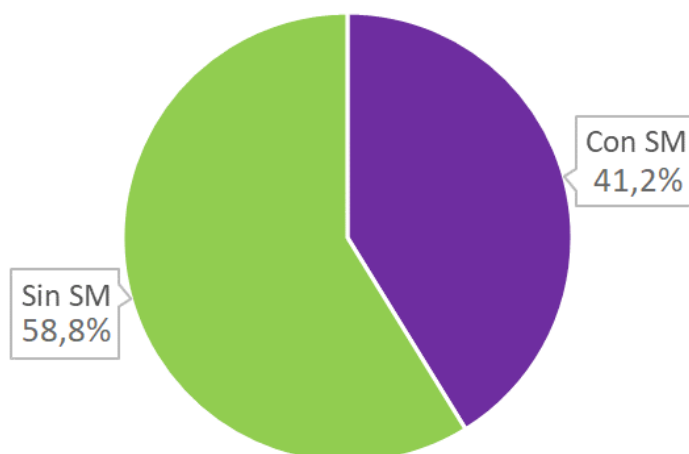


Figura 6. Pacientes con hiperinsulinemia y SM.

21 de 51 pacientes (41,2%) tienen SM.

Por otro lado, el 64,7% de los pacientes estudiados estaban bajo tratamiento farmacológico. Entre ellos se destaca el tratamiento con metformina (45,1%) y metformina en combinación con otro/s fármaco/s (15,7%). Un pequeño porcentaje indicó el uso de otro/s fármaco/s no especificado/s (3,9%), mientras que para el 35,3% de los pacientes no había registro de tratamiento farmacológico relacionado con su condición metabólica (Figura 7).

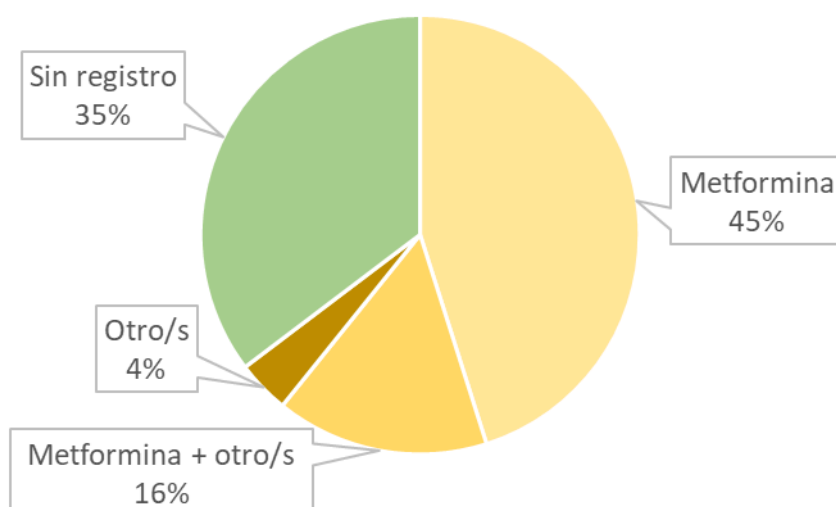


Figura 7. Tratamiento farmacológico en pacientes con hiperinsulinemia.

De los 51 pacientes evaluados, el 45% está bajo tratamiento con metformina, mientras que el 16% usa metformina en combinación con otro medicamento. El 4% usa un medicamento no especificado, y sobre el 35% de los pacientes estudiados no se tiene registros sobre su tratamiento farmacológico.

Al no tener datos sobre las patologías estudiadas en pacientes con insulina normal solo podemos describir una distribución interna de los factores de riesgo en pacientes con hiperinsulinemia.

Se analizaron los datos clínicos de 51 pacientes con hiperinsulinemia, observándose una distribución heterogénea de factores de riesgo metabólico. La condición más frecuente fue la obesidad, presente en el 62,7% de los casos, seguida por el SM (41,2%) y la hiperglucemia (37,3%). En menor proporción se hallaron hipertensión arterial (33,3%) y dislipemia (31,4%) (Figura 8).

La alta frecuencia de obesidad observada entre los pacientes con hiperinsulinemia sugiere una asociación fuerte entre ambas condiciones. Este hallazgo coincide con la evidencia fisiopatológica actual que describe a la obesidad —especialmente visceral— como un factor determinante en la aparición de resistencia a la insulina, debido a mecanismos inflamatorios, endócrinos y de lipotoxicidad. La obesidad no sólo se presenta como un factor de riesgo individual, sino que potencia el desarrollo de otras alteraciones como dislipemia, hipertensión o SM, configurando un perfil de riesgo cardiometabólico múltiple.

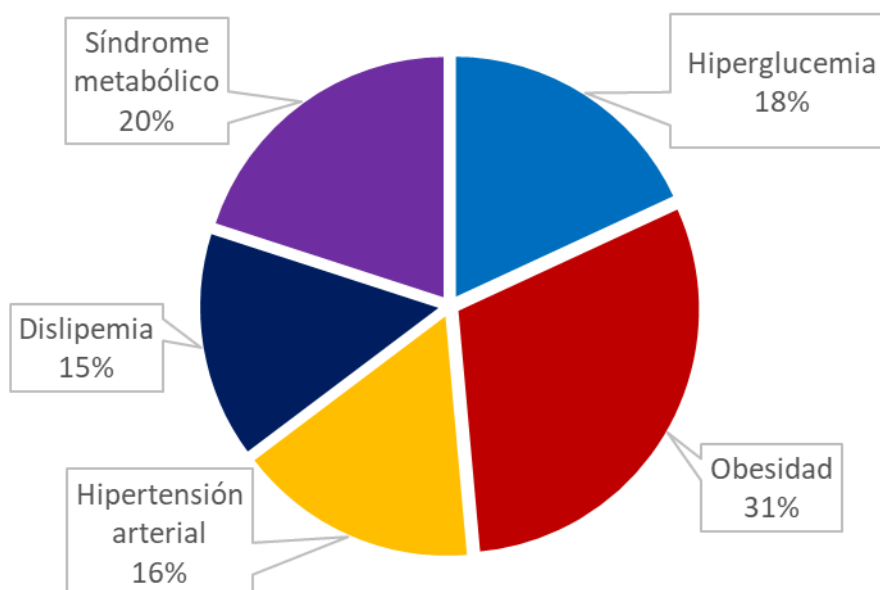


Figura 8. Distribución de patologías asociadas en pacientes con hiperinsulinemia.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Aunque inicialmente se consideró la posibilidad de realizar un análisis de regresión logística o estimación de la razón de posibilidades (“odds ratio”), estos enfoques estadísticos requieren la presencia de un grupo de comparación (por ejemplo, pacientes con insulinemia normal), del cual no se dispone información clínica. En este estudio se trabajó únicamente con pacientes con valores elevados de insulina, por lo cual el análisis se limitó a la descripción de la distribución interna de factores clínicos dentro de dicho grupo.

Esta elección metodológica permite identificar la frecuencia relativa de condiciones como obesidad, SM, dislipemia o hipertensión arterial en pacientes con hiperinsulinemia, aportando valor clínico y epidemiológico, aunque no permite inferencias causales ni estimaciones del riesgo relativo.

Los resultados obtenidos, si bien respaldan la estrecha relación entre la hiperinsulinemia y las patologías asociadas analizadas, no podrían ser extrapolados a la población general debido a que se trabajó con una cantidad de pacientes acotada, en un período de tiempo muy reducido.

En este contexto, sería de gran interés y utilidad poder complementar la evaluación clínica con parámetros bioquímicos de función renal y hepática, ya que tanto el hígado como el riñón cumplen roles centrales en el metabolismo de glucosa, insulina y lípidos.

Su evaluación permitiría una interpretación completa del estado metabólico del paciente y una intervención personalizada frente al riesgo de complicaciones.

Sin embargo, los datos de laboratorio por sí solos no alcanzan para interpretar de manera completa el cuadro clínico de cada paciente. Para una evaluación adecuada, es imprescindible contar con información clínica del paciente, incluyendo antecedentes fisiopatológicos, toma de medicación, síntomas, hallazgos físicos, estilo de vida y hábitos dietarios, datos que solo el médico obtiene en la consulta clínica.

Desde el punto de vista de quienes trabajamos en el laboratorio, esta falta de información representa una limitación concreta a la hora de correlacionar los hallazgos bioquímicos con el contexto del paciente.

Uno de los principales obstáculos fue precisamente la ausencia de historias clínicas completas. Esta situación dificulta la posibilidad de interpretar correctamente los resultados, ofrecer un valor agregado al informe y contribuir al diagnóstico integral. Por lo tanto, remarcamos la necesidad de fomentar una comunicación más fluida y colaborativa entre el

laboratorio y el equipo médico, entendiendo que el abordaje interdisciplinario y el intercambio de información clínica son fundamentales para una atención verdaderamente centrada en el paciente.

PERSPECTIVAS

Los hallazgos encontrados sugieren que la presencia de estas condiciones incrementa significativamente el riesgo de desarrollar hiperinsulinemia, reforzando la utilidad de su detección en la práctica bioquímica como marcador precoz del riesgo metabólico y cardiovascular.

Sería deseable, en futuras investigaciones, contar con un grupo control o realizar un seguimiento longitudinal que permita comparar la evolución metabólica entre pacientes con distintos niveles de insulinemia, y así aplicar modelos estadísticos inferenciales.

La diabetes es una condición compleja y crónica que requiere un continuo seguimiento interdisciplinario con el objetivo de aplicar estrategias para reducir los riesgos que puede ocasionar la hiperglucemia sostenida.

Es de especial importancia tener en cuenta las diferencias clínicas, cognitivas y funcionales que existen entre los pacientes para jerarquizar y establecer objetivos que se encuentren dentro de las posibilidades de cumplimiento de cada paciente en particular. Hay una gran diversidad de pacientes y no todos pueden responder o acceder a los mismos tratamientos.

Es fundamental poner atención en la toma de medidas higiénico-dietéticas con el objetivo de reducir los factores de riesgo y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Bibliografía

- Abdul Basith Khan, M., Hashim, M. J., King, J. K., Govender, R. D., Mustafa, H., & Al Kaabi, J. (2020). Epidemiology of type 2 diabetes—global burden of disease and forecasted trends. *Journal of epidemiology and global health*, 10(1), 107-111. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7310804/>
- Yero, J. A. H., Iglesias, Á. T., & González, D. V. (2011). Utilidad del índice HOMA-IR con una sola determinación de insulinemia para diagnosticar resistencia insulínica. *Revista Cubana de Endocrinología*, 22(2), 69-77. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532011000200002
- Walter, D., Fretchel, G., de Lapertosa, S. G., Commendatore, V., Chertkoff, A., Villarino, A., & Fuentes, G. (2020). Estudio DISCOVER en la población argentina. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes*, 54(2), 31-38. <https://revistasad.com/index.php/diabetes/article/view/336>
- Gorban de Lapertosa, S. B., Miño, C. A., Llanos, I. C., & González, C. D. (2022). Asociación entre uricemia y síndrome metabólico en un centro hospitalario de Corrientes. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes*, 56(3), 83-92. <https://revistasad.com/index.php/diabetes/article/view/478>
- Danne, T. (2021). Opciones de tratamiento actuales y potenciales a futuro para niños en diferentes etapas de diabetes mellitus tipo 1. Novedades acerca de las nuevas terapias para la diabetes en la edad pediátrica. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes*, 55(3Sup), 13-16. <https://revistasad.com/index.php/diabetes/article/view/157/140>
- del Carmen Maselli, M., Llanos, I., Lucarelli, C., Fenili, C., Ruibal, G., & Valdez, S. (2023). Opiniones y recomendaciones de la Sociedad Argentina de Diabetes. Hemoglobina A1c. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes*, 57(1), 20-23. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bancos/2021-01/guia-nacional-practica-clinica-diabetes-mellitus-tipo2_version-abreviada.pdf
- Salzberg, S., de Lapertosa, S. G., & Falcón, E. (2016). Guías de diagnóstico y tratamiento de diabetes gestacional. ALAD 2016. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes*, 50(3), 117-128. <https://revistasad.com/index.php/diabetes/issue/view/59/18>
- Carvajal Carvajal, C. (2017). Síndrome metabólico: definiciones, epidemiología, etiología, componentes y tratamiento. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34(1), 175-193. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000100175
- González-Mujica, F. (2017). Mecanismo de acción de la insulina.(Revisión). *Vitae*, (72). https://vitae.ucv.ve/?module=articulo_pdf&n=5653&rv=137
- Delgado, B. R. (2024). Resumen Estándares de la atención en Diabetes 2023. *Con-Ciencia Serrana Boletín Científico de la Escuela Preparatoria Ixtlahuaco*, 6(12), 20-21. <https://doi.org/10.2337/cd23-as01>
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2021). Tratado de fisiología médica (14.^a ed., pp. 879–880). Elsevier España. <https://cbtis54.edu.mx/...pdf>

Importancia del laboratorio en el diagnóstico y seguimiento de la Enfermedad de Crohn en pediatría

Autoras: Acosta, Lourdes;
Albornoz, Trinidad;
Barbero, M. Sol

Tutora: Sorribas, Aranza

Institución: Hospital de Niños “Victor J. Vilela”

En el presente trabajo se desarrollará la importancia del rol bioquímico en el diagnóstico rápido y seguimiento de las Enfermedades Inflamatorias Intestinales pediátricas, particularmente la Enfermedad de Crohn. Para tal fin describiremos un caso clínico.

Presentación

Paciente masculino de 6 años de edad ingresó a la guardia del Hospital de Niños “Victor J. Vilela” el día 9 de febrero de 2025. Consultó por presentar diarrea de 14 días de evolución, con presencia de estrías de sangre. En el examen físico manifestó un buen estado general, afebril, sin vómitos, normohidratado, con abdomen blando, depresible, levemente doloroso en forma difusa, sin defensa ni descompresión, con ruidos hidroaéreos levemente aumentados. Presentó eritema perianal.

Por falta de remisión del cuadro de diarrea y pérdida del 10% de su peso en los últimos 21 días, se decidió internación e interconsulta con el Servicio de Gastroenterología, en el cual se llevó a cabo una evaluación nutricional que dictaminó desnutrición crónica (IMC pZ -2/-3), con una talla de 119 cm y un peso de 18kg.

Dentro de los antecedentes familiares se destaca: Padre: asma || Hermano: bronquitis obstructiva recurrente || Abuelo paterno: diabetes tipo 2 || Tía y prima paternas: celiaquía.

Luego de realizarse estudios de laboratorio clínico, microbiológico e inmunológico para descartar las causas más comunes de diarrea crónica, se llegó a la sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal. El día 5 de marzo se realizó videoendoscopia digestiva alta y baja con toma de muestra para anatomía patológica.

En conjunto con los resultados obtenidos de la videoendoscopia, biopsia y análisis de laboratorio se arribó al diagnóstico de Enfermedad de Crohn.

Una vez establecido el diagnóstico definitivo, se inició terapia con 6MP (6 - mercaptopurina), nutrición enteral exclusiva con hidrolizado extenso, mesalazina y prednisona, mostrando buena evolución.

Para el seguimiento del paciente, en los controles con su médico de cabecera se evalúa la evolución clínica con la escala PCDAI, ecografías intestinales y análisis de laboratorio para supervisar estado inflamatorio, nutricional y respuesta al tratamiento.

Marco teórico

Las enfermedades diarreicas son una importante causa de morbilidad a nivel mundial, principalmente en pacientes pediátricos. La OMS define diarrea como la deposición de heces sueltas o líquidas, 3 o más veces al día (o con una frecuencia mayor que la normal para la persona). Asimismo, se considera diarrea aguda cuando la duración es menor a una semana y crónica cuando se manifiesta por 30 días o más.

Dentro de las causas más frecuentes de diarrea crónica en pacientes en edad escolar, se encuentran infecciones parasitarias, enfermedad celíaca, intolerancia a la lactosa y enfermedades inflamatorias intestinales. Por otro lado, en cuanto a diarreas agudas, las causas suelen asociarse a infecciones gastrointestinales virales (Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, entre otros) o bacterianas (más usuales en edad de 6 a 10 años: *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*).

El bioquímico cumple un rol fundamental en el diagnóstico diferencial de las diversas etiologías que pueden provocar diarrea, ya que es necesario establecer la causa definitiva para poder instaurar el tratamiento correcto. Esto último cobra relevancia aún más en pacientes pediátricos, dado que diarreas prolongadas en edades tempranas afectan de manera directa el crecimiento, desarrollo y calidad de vida.

En la evaluación de laboratorio, los análisis solicitados varían según la causa sospechada y el cuadro clínico. En el caso de las diarreas prolongadas, deben estudiarse fundamentalmente en un contexto de desnutrición. Dentro de estos:

- Análisis de sangre básicos: Hemograma con plaquetas, VES, PCR, ionograma, EAB, uremia, creatininemia, transaminasas, albuminemia.

Permiten obtener información en cuanto a signos de deshidratación, malabsorción de nutrientes, inflamación e infección.

- Estudios en materia fecal
 - Iniciales: coprocultivo, parasitológico seriado, panel viral
 - Otros estudios: leucocitos, sangre oculta, pH y sustancias reductoras, calprotectina, Van de Kamer.

Útiles para evaluar si las diarreas son de etiología infecciosa, con componente inflamatorio y/o alteraciones en el proceso absorbivo.

- Según sospecha específica: anticuerpos para enfermedad celíaca, entre otros.

Si bien la mayoría de los casos de diarreas en infantes son debidas a procesos infecciosos, la incidencia y prevalencia de Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) se ha incrementado en los últimos años. Se trata de una patología inflamatoria del tubo digestivo que comprende la Colitis Ulcerosa (CU), la Enfermedad de Crohn (EC) y la enfermedad inflamatoria intestinal no clasificable (EII-nc). Casi un 30% de los casos son diagnosticados en edad pediátrica. La EII se caracteriza por alternar períodos de recaída y remisión, con un curso imprevisible y una morbilidad significativa.

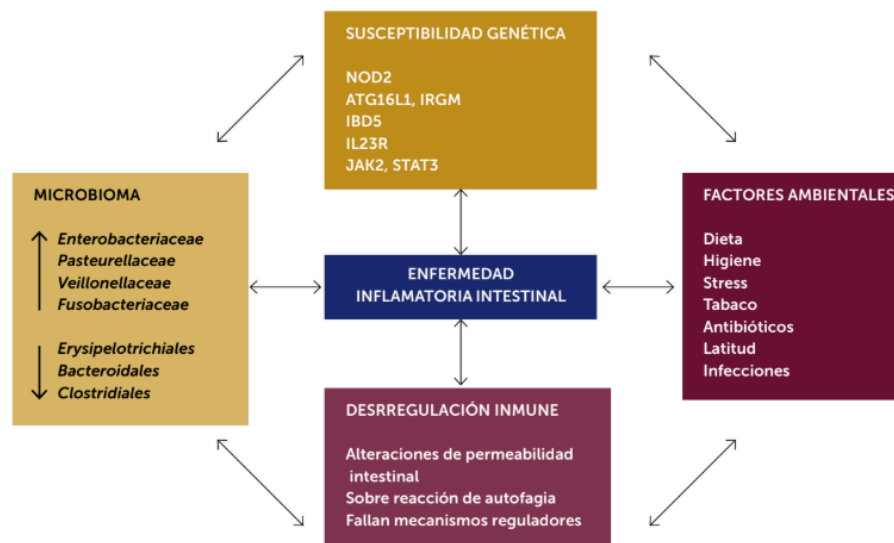


Figura 1. Patogenia EII.

La etiología y patogenia de EII aún no está bien establecida, pero es el resultado de una interacción entre factores ambientales, factores genéticos del paciente, desregulación del sistema inmune y disbiosis con disminución de familias de bacterias necesarias para mantener el sistema inmune de mucosas.

La Enfermedad de Crohn afecta cualquier parte del tracto digestivo, desde la boca al ano. Los síntomas dependen de las zonas afectadas e incluyen dolor abdominal y diarrea crónica; en caso de alteración colónica, la diarrea es disintérica.

En pediatría la afectación es preferentemente ileocolónica y con menor frecuencia se involucra únicamente el colon. Al debut de la enfermedad presentan un compromiso más extenso en comparación con la población adulta. Por otro lado, existen manifestaciones clínicas características como retardo de crecimiento lineal y retardo puberal, siendo los factores causales la desnutrición, inflamación crónica, y tratamientos prolongados con esteroides.

Debido a que no existe un criterio único o patognomónico de la enfermedad, el diagnóstico debe basarse en la combinación de historia clínica, examen físico,

laboratorio y estudios endoscópicos digestivos con histología. Se debe descartar al inicio infecciones entéricas bacterianas, incluyendo *Clostridium difficile*.

Para determinar el tratamiento a seguir, y la evolución del paciente se utilizan índices de actividad de EII. El estándar utilizado actualmente es el PCDAI, es una escala útil en el seguimiento de los pacientes.

HISTORIA (durante 7 días)		
Dolor abdominal		Puntaje
0 - Nada	5 - leve: breve no interfiere con actividades	10 - moderado/severo diario, mayor duración, afecta actividades, nocturno
Actividad, estado general		Puntaje
0 - sin limitación actividad	5 - ocasional dificultad en mantener actividades acorde edad, menor que sus pares	10 - frecuente limitación actividad muy pobre relación a pares
Deposiciones (por día)		Puntaje
0- 0-1 deposición líquida, sin sangre	5 - hasta 2 semiformada, poca sangre 2-5 líquidas	10 - abundante sangre, 2-6 líquidas, o diarrea nocturna
EXAMEN		
Abdomen		Puntaje
0 - sin dolor sin masa	5 - dolor o masa sin dolor	10 - dolor involuntario, masa definitiva
Enfermedad perirrectal		Puntaje
0 - nada Tags asintomáticas	5 - 1-2 fistulas, indoloras escaso drenaje	10 - fistula activa, drenaje, dolor de absceso
Peso		Puntaje
0- ganancia peso mantener peso voluntario / pérdida	5 - mantener peso involuntario, bajo peso 1 - 9%	10 - pérdida peso $\geq$ 10%
Manifestaciones extraintestinales		Puntaje
Fiebre $\geq$ 38,5 °C por 3 días en semana previa, artritis clara, uveítis, eritema nodoso, pioderma gangrenoso		
0 - nada	5 - 1	10 $\geq$ 2
Puntaje Final		
Actividad de la enfermedad: < de 10: remisión. 10 - 27,5: leve. 30 - 37,5: moderada. > 40: severa.		

Figura 2. Tabla PCDAI.

Dentro de los estudios de laboratorio que se le realizan a pacientes con EII, se utiliza la determinación de calprotectina fecal, un marcador de inflamación intestinal que se considera superior a los marcadores séricos de inflamación; se trata de una proteína que se encuentra en los gránulos del citosol de los neutrófilos. Se puede realizar una medición basal para luego monitorizar la respuesta a terapia.

Por otro lado, existen marcadores serológicos como pANCA (anticuerpo anticitoplasma neutrófilo, patrón perinuclear) y ASCA (anticuerpo anti-*Saccharomyces cerevisiae*). Su uso es complementario, no de rutina, pueden ser útiles para diferenciar CU de EC o tener un rol pronóstico en ocasiones. La

ausencia no excluye EII, especialmente en niños. Para la EC se consideran más específicos ASCA IgA e IgG (95% uno de los dos o 100% ambos) y para CU, pANCA tiene una especificidad de 92%. Su significado podría estar vinculado a la pérdida de tolerancia inmune a organismos comensales y/o al aumento de la permeabilidad intestinal con exposición a antígenos microbianos. Sus ventajas incluyen que son fáciles de obtener, no son invasivos y permiten una cuantificación objetiva.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	ENFERMEDAD DE CROHN	COLITIS ULCEROSA
Distribución por Sexo	Hombre>Mujer	Hombre=Mujer
Síntomas y Signos	Dolor abdominal, diarrea, baja de peso, anorexia, retraso pondo estatural	Diarrea con sangre y dolor abdominal
Localización	Boca al ano, compromiso transmural: mucosa a serosa, ileocolónico lo más común	Sólo colon, compromiso mucoso, pancolónico lo más común
Hallazgos endoscópicos	Distribución segmentaria, úlceras aftosas, úlceras profundas, empedrado, enfermedad perianal, estenosis, fistulas	Eritema difuso y continuo, friabilidad, granularidad, pérdida patrón vascular desde el recto hacia distal.
Hallazgos histológicos	Granulomas no caseificados (patognomónicos); criptitis focal, abscesos cripticos, ileitis	Criptitis, abscesos cripticos, distorsión arquitectura de la cripta, linfocitosis basal, metaplasia distal células paneth
Hallazgos Radiológicos	Segmentos estenóticos rígidos, áreas sanas v/s inflamadas	Dilatación del colon en megacolon toxico

Figura 3. Características clínicas EC y CU.

Dentro de los diagnósticos por imágenes, la tomografía computada (TC) permite evaluar el contenido intestinal y extraintestinal de manera no invasiva, rápida y posibilita obtener imágenes de múltiples planos. Dentro de los hallazgos característicos en EII se destaca el engrosamiento de la pared intestinal y la separación de asas intestinales.

Otra prueba diagnóstica es la colonoscopia, esencial para diferenciar EC de CU e identificar localización y extensión de la enfermedad. La histología de una biopsia de un paciente con EC muestra inflamación crónica focal o en parches, alteración focal de la arquitectura de las criptas.

Para monitorización, se utiliza la ecografía intestinal por ser una técnica de imagen no invasiva y permite valorar la actividad y extensión de la enfermedad. Cuando se observa una disminución en el engrosamiento de la pared, indica un tratamiento efectivo.

Respecto a la terapia, el abordaje se organiza en dos etapas: inducción de la remisión y sostén a largo plazo. El objetivo no solo es controlar síntomas, sino también alcanzar una reparación de la mucosa y desarrollo físico adecuado para la edad. En EC, a fin de alcanzar la remisión resulta tan eficaz la nutrición enteral exclusiva (ayuda a reparar la mucosa intestinal inflamada) como el tratamiento con

corticoides (los cuales solo deben limitarse a esta etapa para evitar efectos secundarios por el uso prolongado). En el período de mantenimiento se utilizan inmunomoduladores (por ejemplo: 6-mercaptopurina). Además, se emplean antiinflamatorios como los aminosalicilatos.

Es importante destacar que previo al tratamiento inmunosupresor, es necesario descartar infecciones latentes como tuberculosis, como así también completar esquemas de vacunación. De igual manera, resulta indispensable monitorizar parámetros de laboratorio para controlar efectos adversos de la terapia (leucopenia, supresión del eje hipotálamo - hipófisis - glándula adrenal, hepatotoxicidad, entre otros).

Resultados

Evolución resultados de laboratorio:

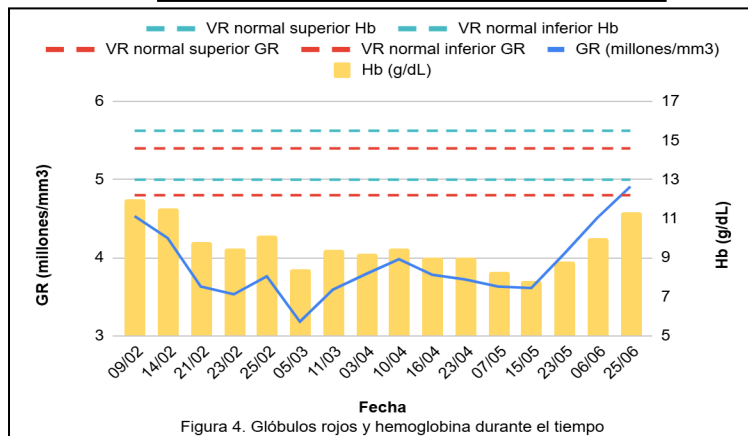


Figura 4. Glóbulos rojos y hemoglobina durante el tiempo

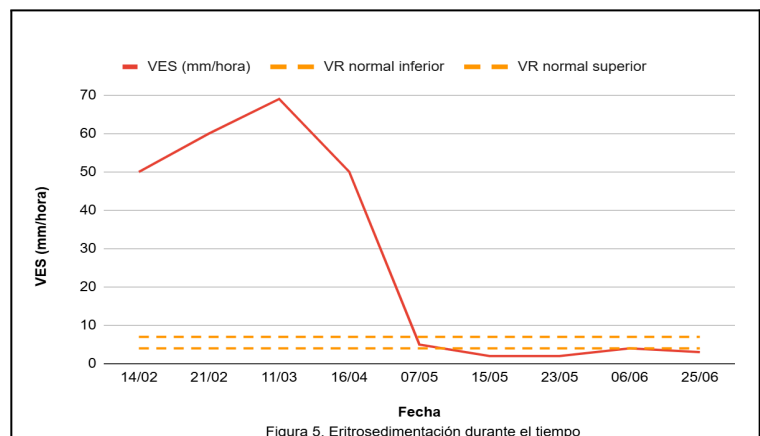


Figura 5. Eritrosedimentación durante el tiempo

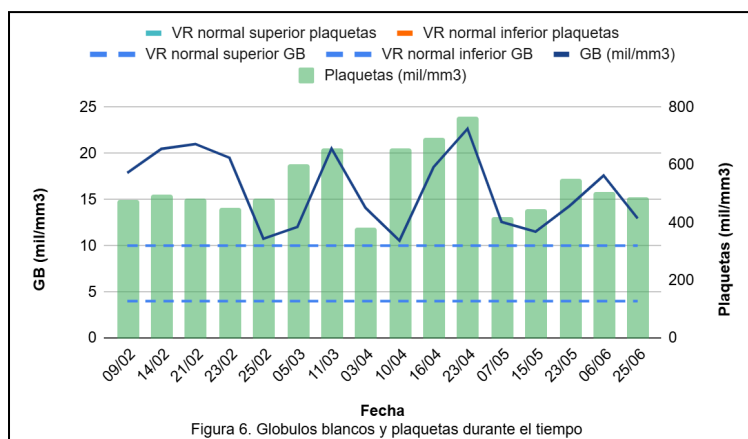


Figura 6. Globulos blancos y plaquetas durante el tiempo

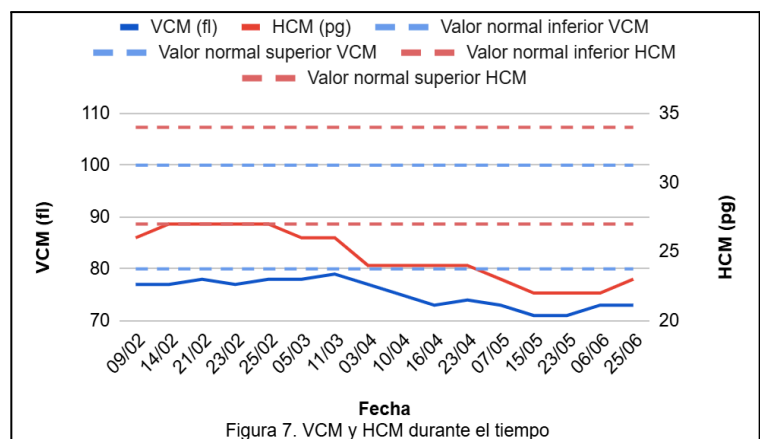


Figura 7. VCM y HCM durante el tiempo

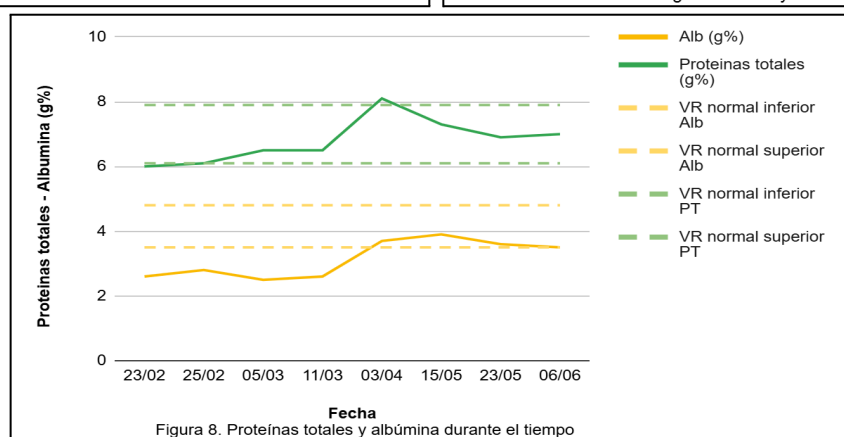


Figura 8. Proteínas totales y albúmina durante el tiempo

Estudios complementarios:

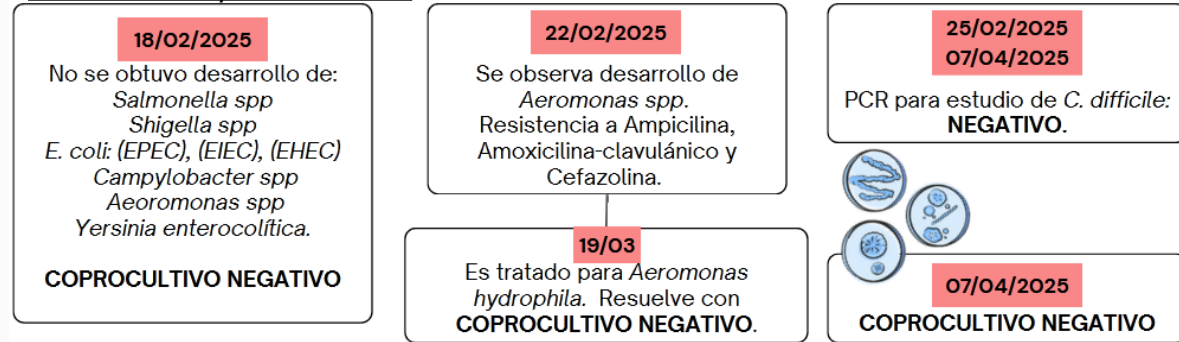


Figura 9. Análisis bacteriológico en materia fecal (MF).

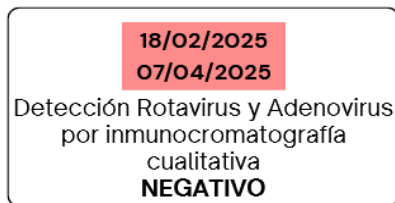


Figura 10. Rotavirus/Adenovirus en MF

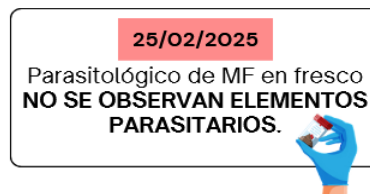


Figura 12. Exámen microscópico de MF.

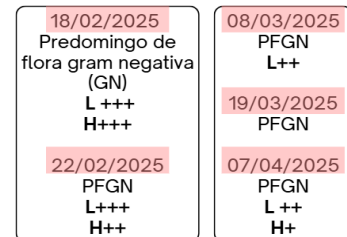


Figura 11. Análisis parasitológico en MF.

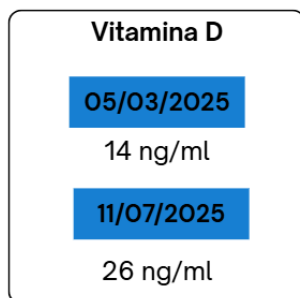


Figura 13. Resultado análisis Vit D.

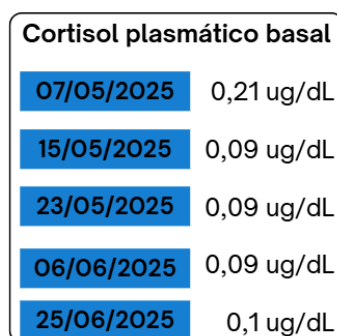


Figura 14. Resultado análisis cortisol plasmático basal.

Fecha	Sideremia (ug/dL)	Porcentaje de Sat Hierro (%)	TIBC (ug/dL)
05/03/2025	16	6,8	237
11/03/2025	18	8,5	213
07/05/2025	12		
15/05/2025	11		
23/05/2025	14		
06/06/2025	15	3,9	383

Figura 15. Perfil de hierro

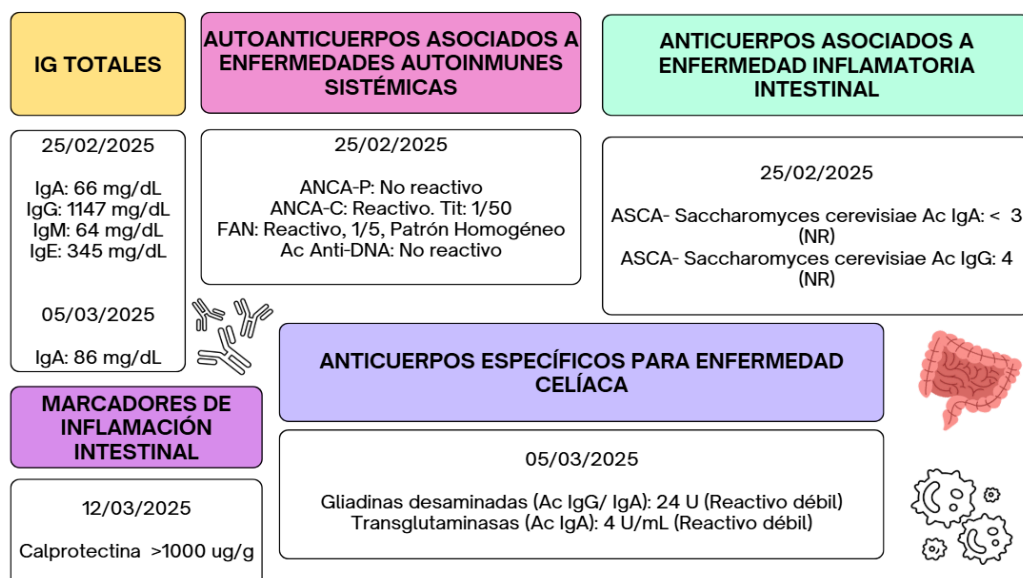


Figura 17. Perfil de autoanticuerpos y marcadores específicos en enfermedades autoinmunes y digestivas.

La biopsia de mucosa gástrica y colónica mostró hallazgos compatibles con una colitis crónica activa de grado moderado, distorsión estructural de las glándulas, ulceración, abscesos crípticos y formación de granulomas epitelioides, lo que es compatible con enfermedad inflamatoria intestinal, sugiriendo Enfermedad de Crohn. También se identificó tejido de granulación con hemorragia reciente, y en la mucosa duodenal la morfología general está conservada. En biopsia endoscópica de colon: colitis crónica activa de grado moderado con infiltrado inflamatorio linfocitario a predominio de CD8.

La entero-TAC mostró asas colónicas distendidas, pérdida de haustras, contenido líquido en su interior y ganglios mesocólicos aumentados de tamaño, sugestivos de inflamación.

La ecografía intestinal evidencia un engrosamiento focal irregular de la capa mucosa.

Discusión y conclusiones

En primer lugar, los laboratorios evidenciaron un estado inflamatorio sistémico a través de la marcada leucocitosis (*Figura 6*), con valores desde 10750/mm³ hasta 21000/mm³, acompañado de una eritrosedimentación (*Figura 5*) persistentemente elevada (> 50mm/hora) y una moderada trombocitosis (350-760 mil/mm³) (*Figura 6*). Desde el punto de vista hematológico, se pone de manifiesto una anemia microcítica hipocrómica, con hemoglobina descendiendo progresivamente desde 12 g/dL hasta 8,4 g/dL (*Figura 4*), valores de VCM entre 71 - 78 fL y HCM entre 22 - 27 pg (*Figura 7*). Por otra parte, presenta parámetros compatibles con anemia de carácter multifactorial, con una combinación de alteraciones compatibles tanto con deficiencia de hierro como inflamación crónica. La sideremia menor a 18 µg/dL, porcentaje de saturación de transferrina menor al 10% y TIBC levemente disminuido reflejan una menor disponibilidad del hierro (*Figura 15*), consecuencia de dos mecanismos principales: por un lado, durante el proceso inflamatorio se inhibe tanto la absorción intestinal como la liberación de hierro desde depósitos; por el otro, la afectación intestinal genera pérdidas sanguíneas fecales crónicas.

Los valores de albúmina sérica permanecen disminuidos, indicando una alteración del estado nutricional, agravada por pérdidas proteicas intestinales. Las proteínas totales permanecen en el límite inferior de la normalidad (*Figura 8*). Además, se detectó una deficiencia de vitamina D (*Figura 13*).

En cuanto al análisis de materia fecal, se observaron leucocitos y hematíes (*Figura 12*), signos de una disentería. Para descartar causas microbiológicas, se hicieron análisis parasitológicos y bacteriológicos, siendo ambos negativos (*Figuras 9 y 11*).

Ante la persistencia del cuadro se le realizaron estudios inmunológicos. Los resultados obtenidos de FAN y Ac anti DNA (*Figura 17*) descartaron una etiología autoinmune, ya que el patrón homogéneo de FAN, en relación con el título bajo y Ac anti DNA no reactivos, no sugieren una enfermedad autoinmune activa. El título $\frac{1}{8}$ puede ser una respuesta inespecífica a una inflamación crónica actual.

Se estudiaron anticuerpos ANCA y ASCA que en este caso, ASCA Ac IgA e IgG fueron no reactivos (*Figura 17*) cuando tienen una especificidad muy elevada de EC. Aunque son buenos marcadores, no son patognomónicos de la enfermedad.

Para descartar enfermedad celíaca se analizaron anticuerpos anti gliadinas desaminadas y anticuerpos anti transglutaminasa, obteniéndose una reactividad débil (*Figura 17*). Esto puede deberse a la permeabilidad aumentada de la mucosa intestinal del paciente debido al proceso inflamatorio, que genera una mayor exposición a los antígenos alimentarios como el gluten, originando anticuerpos de bajo título, sin ser específicos o causales de enfermedad celíaca.

Por otro lado, un marcador crucial fue la calprotectina fecal arrojando valores mayores a 1000 $\mu\text{g/g}$ (*Figura 17*), lo cual refleja enfermedad inflamatoria con afectación intestinal intensa.

Con el estudio de anatomía patológica concluyeron una colitis crónica activa de grado moderado. En la tomografía entérica se evidenció un colon más dilatado de lo normal, probablemente por acumulación de contenido o inflamación; pérdida de haustras que indica inflamación crónica o un espasmo persistente. El resultado obtenido de la evaluación histomorfológica y la entero TAC fueron compatibles con un cuadro de EII.

Gracias a los parámetros de laboratorio que lograron orientar el estudio del paciente, a través del descarte de causas microbiológicas e inmunológicas, los valores que evidenciaron inflamación sistémica, anemia por deficiencia de hierro, hipoalbuminemia y deficiencia de vitamina D, sumado al exámen físico y estudios por imágenes, el equipo médico de gastroenterología logró a través del trabajo interdisciplinario concluir el diagnóstico de **Enfermedad de Crohn**.

Luego de instaurar el tratamiento farmacológico y la dieta especializada, se observó una marcada mejoría del valor de VES y leve de hemoglobina y proteínas totales a expensas de la albúmina, sumado a un restablecimiento de la vida cotidiana.

Específicamente para controlar la corticoterapia se hacen mediciones de cortisol basal para evaluar el eje hipotálamo - hipófisis - glándula adrenal, y controlar la respuesta a los ajustes de tratamiento que se realizan gradualmente en el tiempo. Los valores de cortisol basal dieron notablemente disminuidos, variando entre 0,21 y 0,09 ug/dL (*Figura 17*), evidenciando una supresión del eje. Esto implica que cuando el paciente pueda abandonar la corticoterapia, deberá hacerlo de manera paulatina y controlar signos de insuficiencia suprarrenal.

Para supervisar el estado general del paciente se analizarán valores de hemograma, perfil de hierro, electrolitos, proteínas totales y fraccionadas, VES, PCR, perfil hepático, glicemia, y perfil renal.

Perspectivas

Destacamos la importancia del trabajo interdisciplinario realizado por el personal de salud del Hospital Víctor J. Vilela, gracias a esto se pudo llegar rápidamente al diagnóstico de Enfermedad de Crohn, lo que permitió instaurar un tratamiento óptimo para mejorar la salud del paciente y su calidad de vida.

Al no contar con un marcador patognomónico de la enfermedad, es crucial el rol del bioquímico para interpretar los marcadores de laboratorio dentro del contexto clínico adecuado y facilitar la comunicación con el equipo médico. Es fundamental promover espacios de diálogo, capacitación e intercambio de sospechas clínicas para una atención integral del paciente.

Proponemos considerar estudios de calprotectina fecal para el seguimiento del tratamiento. También, investigar otras deficiencias como ácido fólico o vitamina B12, para realizar un enfoque interdisciplinario con nutricionistas, debido a que la desnutrición crónica resalta la necesidad de un seguimiento estrecho nutricional. Además, considerar intervención psicológica para el niño y su entorno más cercano, por el impacto emocional de un diagnóstico de una enfermedad crónica en un paciente pediátrico.

El objetivo final es promover estrategias para afrontar la patología y lograr una mejor adherencia al tratamiento.

Bibliografía

1. Organización Mundial de la Salud. (2023, 2 de mayo). *Enfermedad diarreica*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
2. Sierra Pérez, E., & Álvarez-Coca González, J. (2013). *Diarrea crónica*. En Asociación Española de Pediatría (Ed.), *Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría: Gastroenterología* (pp. 27–35). Asociación Española de Pediatría. https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/3-diarrea_cronica.pdf
3. Rudolph, J. A., & Rufo, P. A. (2004). Diarrhea, pediatric. En *Encyclopedia of Gastroenterology* (pp. 585–593). Elsevier.
4. Organización Mundial de Gastroenterología. (2015). *Guías mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología: Diarrea: un enfoque mundial*. Organización Mundial de Gastroenterología. <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/diarrhea-spanish-2015.pdf>
5. González Y, M., Ossa, J. C., Alliende G, F., Canales R, P., Cofré D, C., Faúndez, R., Toledo, M., Busoni, V., Contreras, M., Fabeiro, M., Furnes, R., Wagener, M., Bravo, S., Orsi, M., Zacur de Jiménez, M., Ortiz, L., Rodríguez, M., Vivar, L., Mayen, J., Ramírez Rodríguez, N., Iglesias, C., Tanzi, M. N., & Delgado, L. (2018). Enfermedad Inflamatoria Intestinal en pediatría (EII): revisión. Grupo de trabajo de la Sociedad Latinoamericana de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SLAGHNP). *Revista ACTA Gastroenterológica Latinoamericana*.
6. Grez, C., & Ossa, J. C. (2019). Enfermedad inflamatoria intestinal en pediatría: una revisión. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 30(5), 372–382. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2019.06.009>
7. Silva, F., Gatica, T., & Pavez, C. (2019). Etiología y fisiopatología de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 30(4), 262–272. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2019.06.004>
8. Anriquez, D. A., Maidana, M. A., Balderramo, D., Daruich, M. L., & Furnes, R. (2024). Características de la enfermedad inflamatoria intestinal pediátrica en un hospital de la capital de Córdoba, Argentina. *Revista Médica Clínica Las Condes*.

9. García-Martínez, P., & González-Moreno, P. (2021). Estudio con ecografía en enfermedad inflamatoria intestinal. *Anales de Pediatría Continuada*, 51(2), 67-72.

<https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-estudio-con-ecografia-enfermedad-inflamatoria-S1696281811700075>

Prevalencia de anemia ferropénica en pacientes del Hospital Provincial del Centenario

Autores: Damiani, Milagros; Duelli, Juliana; Villarreal, Candela.

Tutora: Schoepf, María Victoria.

Institución: Hospital Provincial del Centenario.

Presentación:

El presente trabajo tiene como objetivo principal establecer la prevalencia de anemia ferropénica en pacientes del Hospital Provincial del Centenario.

Para ello se evaluaron un total de 79 pacientes que concurrieron de manera ambulatoria al laboratorio del hospital durante el mes de marzo de 2025 con solicitud simultánea de hemograma y perfil férrico para evaluación de los parámetros hematológicos y del metabolismo del hierro.

Marco teórico:

Importancia del hierro en el organismo

El hierro es un mineral esencial para el ser humano, fundamental para múltiples procesos biológicos. Aproximadamente el 70% del hierro funcional se encuentra formando parte de la hemoglobina y un 5% en la mioglobina, ambas responsables del transporte de oxígeno. El resto se almacena principalmente como ferritina y hemosiderina. Su capacidad para alternar entre los estados ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}) lo convierte en un cofactor clave en reacciones de oxidorreducción, hidroxilación y otros procesos metabólicos esenciales.

El hierro se mantiene en el organismo en un ciclo cerrado donde se recicla continuamente. La cantidad que se absorbe a partir de la dieta (carne, pescado, pollo, huevo, verduras, legumbres, etc) es sólo la necesaria para cubrir las pérdidas diarias, las cuales son mínimas (2mg/día). Estas pérdidas se producen por descamación epitelial, sudoración, saliva, bilis, y otras secreciones, ya que no existe un mecanismo fisiológico de eliminación del hierro. El hierro en exceso o en forma libre puede ser tóxico, favoreciendo la formación de radicales libres y el daño oxidativo celular. Por esta razón, los niveles de hierro celular y sistémico se encuentran estrechamente regulados y se mantiene en equilibrio en tres compartimentos:

1. Depósito: hierro almacenado como ferritina.
2. Transporte: hierro unido a transferrina sérica.
3. Funcional: hierro que forma parte de la hemoglobina.

Cuando las pérdidas de hierro superan a la ingesta, se utiliza el hierro que se encuentra en los depósitos hepáticos y de médula ósea. Si esta situación se prolonga en el tiempo, el hierro del depósito se agota y comienza a utilizarse el hierro del compartimento de transporte. Por último, se altera el hierro funcional. Teniendo en cuenta el compromiso de cada uno de estos compartimentos, podemos diferenciar 3 estadios clínicos de la anemia ferropénica:

1. Depleción de hierro de depósitos (anemia latente): niveles de ferritina sérica disminuidos o ausentes, con concentración plasmática del metal, transferrina y hemoglobina en valores normales.
2. Deficiencia de hierro sin anemia (anemia precoz): Etapa de deficiencia precoz donde se comienza a utilizar el hierro del compartimento de transporte. Ausencia de hierro en los depósitos, niveles de hierro sérico y porcentaje de saturación de transferrina bajo, pero sin una anemia franca.
3. Anemia por deficiencia de hierro (anemia manifiesta): Deficiencia manifiesta. Estadio más avanzado de déficit de hierro. Ausencia de hierro en depósitos, concentración de hierro sérico bajo, saturación de transferrina baja, y concentración de hemoglobina baja.

El resultado es serie eritroide microcítica hipocrómica (volumen corpuscular medio y hemoglobina corpuscular media por debajo del límite de referencia), lo que genera una disminución del hematocrito. En esta etapa, además de la alteración de los parámetros bioquímicos, se ponen en manifiesto los signos y síntomas característicos de la anemia: fatiga, palidez de piel y mucosas, anorexia. Si la anemia se prolonga lo suficiente en el tiempo y se torna grave, podría causar alteraciones circulatorias como taquicardia e hipotensión arterial, disnea, cansancio extremo e incluso falla cardíaca por aumento del gasto, sobre todo en personas con enfermedades cardíacas de base.

Perfil férreo y biomarcadores hematológicos

Para la evaluación del estado del hierro se utilizan conjuntamente parámetros bioquímicos y hematológicos:

10. Hierro sérico: mide la concentración de hierro circulante unido a transferrina. Valores de referencia: 59-195 ug/dL

11. TIBC (Total Iron-Binding Capacity): cuantifica la capacidad total de la transferrina para fijar hierro, reflejando de forma indirecta su concentración funcional. Valor de referencia: 228-428 ug/dL
12. UIBC (Unsaturated Iron-Binding Capacity): corresponde a la fracción de la transferrina aún disponible para unir hierro; se calcula como TIBC menos el hierro sérico. Valor de referencia: 125-345 ug/dL
13. % Saturación de transferrina: indica la proporción de sitios de unión de la transferrina que están ocupados; se obtiene mediante: $\text{hierro sérico} \times 100 / \text{TIBC}$. Valor de referencia: 20-55 %
14. Ferritina sérica: proteína de depósito que refleja las reservas corporales totales de hierro. Valor de referencia: 30-400 ng/mL

Anemia

La anemia se define como la disminución de la concentración de hemoglobina por debajo de límites considerados de referencia, para una determinada población analizada, dependiendo de factores como edad, sexo, condiciones ambientales y hábitos alimentarios. Constituye una de las causas más frecuentes de consulta clínica. Una vez evidenciada la disminución de hemoglobina en el hemograma, se debe determinar su causa o etiología. Para ello se realizan exámenes complementarios, teniendo en cuenta la observación microscópica de la serie roja, datos clínicos y anamnesis del paciente. Debido a que la causa más habitual de la anemia microcítica es la falta de hierro (ferropenia), es importante comenzar el estudio evaluando el perfil férrico.

El hemograma aporta parámetros fundamentales para la caracterización de anemias y alteraciones hematológicas:

- Hemoglobina (Hb): principal proteína transportadora de oxígeno a través del grupo hemo. Siendo los valores de referencia para mujeres en edad fértil: 11,6-15 g/dL y para hombres y mujeres post menopáusicas: 13,2- 16,6 g/dL.
- Hematocrito (Hto): porcentaje del volumen sanguíneo ocupado por los eritrocitos. Valor de referencia: 36-45 %
- Volumen corpuscular medio (VCM): tamaño promedio de los eritrocitos. Valor de referencia: 79,4-94,8 fL
- Hemoglobina corpuscular media (HCM): cantidad media de hemoglobina por glóbulo rojo. Valor de referencia: 25,6-32,2 pg

- Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM): relación entre hemoglobina y volumen eritrocitario; expresa la concentración de hemoglobina dentro del glóbulo rojo. Valor de referencia: 32,3-35,5 g/dL

Para garantizar la confiabilidad de estos resultados, es importante que la extracción de sangre para análisis de perfil férrico se realice en ayunas y preferentemente por la mañana.

Es importante realizar el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica ya que, aunque es la anemia más prevalente sobre todo en niños y mujeres en edad fértil, existen otras entidades clínicas como la anemia de los procesos crónicos, talasemia o la anemia sideroblástica que también cursan con microcitosis pero que se diferencian de la anemia ferripriva y entre sí por otros parámetros distinguibles en el laboratorio.

Variaciones fisiológicas según edad y sexo

Los valores del hemograma y perfil férrico muestran diferencias relevantes:

- En recién nacidos, hemoglobina y hematocrito elevados como adaptación a la vida intrauterina; caída fisiológica posterior (anemia del lactante).
- En niños y adolescentes, aumento progresivo; los varones alcanzan valores mayores a partir de la pubertad por efecto de la testosterona.
- En mujeres en edad fértil, hemoglobina y ferritina son más bajas por las pérdidas menstruales, lo que aumenta la prevalencia de anemia ferropénica.
- En embarazo, descenso adicional de ferritina y hierro por el aumento de la demanda fetal. Disminución de hemoglobina y hematocrito por hemodilución.
- En adultos mayores, leve descenso de hemoglobina y hematocrito (“anemia del envejecimiento”), que puede coexistir con enfermedades crónicas.
- En hombres adultos y mujeres post-menopáusicas, ferritina más alta y estable; valores persistentemente elevados pueden indicar sobrecarga férrica.

Consideraciones clínicas

El diagnóstico e interpretación de resultados deben realizarse considerando edad, sexo, antecedentes clínicos y presencia de inflamación o procesos crónicos, que pueden modificar marcadores como la ferritina, ya que actúa además como

reactante de fase aguda. Una evaluación integral permite diferenciar entre deficiencia de hierro manifiesta, funcional de otras causas de anemia microcítica.

Según un estudio publicado por la OMS en el año 2023 sobre la prevalencia de anemia y/o la concentración de hemoglobina en mujeres en edad reproductiva (15-49 años) utilizando para el análisis datos recopilados entre los años 1995 y 2023, se posicionó a la Argentina en un rango moderado de prevalencia de anemia, es decir, entre el 20-40% de la población total estudiada de mujeres en edad reproductiva la padecen.

Resultados:

De la población estudiada, el 74,6% (n=59) corresponde a pacientes de sexo femenino y 25,4% (n=20) a sexo masculino.

Dentro del grupo femenino, el 33,9% (n=20) presentó deficiencia de hierro. De estas 20 mujeres con déficit de hierro, 14 presentan anemia precoz y 6 padecen anemia manifiesta. 5 de las 6 mujeres con anemia manifiesta se encuentran en edad fértil. Se observó que del total de pacientes con anemia manifiesta únicamente 2 de ellas presentan además niveles de ferritina por debajo del límite inferior de referencia. Las 4 pacientes restantes presentaron niveles de ferritina normales.

Del total de pacientes masculinos analizados, se evidenció que el 25% (n=5) presenta deficiencia de hierro, y de éstos, 2 pacientes padecen anemia manifiesta. El 75% restante mostró valores de hierro dentro del rango normal. No se observó ningún caso con niveles de ferritina por debajo del límite inferior de referencia, ya que de estos 2 pacientes con anemia manifiesta uno presentó valores de ferritina normales y el otro niveles superiores.

Discusión y conclusiones:

En terminos generales, se evidencia que los pacientes del mes de Marzo fueron en su mayoría del sexo femenino. Al analizar los valores de hierro sérico se observa una gran prevalencia de déficit del mismo en la población en general, ya que un 31,6% de la población estudiada presenta concentraciones por debajo del límite inferior de referencia.

Al evaluar la deficiencia de hierro en la población de pacientes de sexo femenino un 33,9% (n=20) presenta valores por debajo del límite inferior de referencia, sin embargo, de estas 20 mujeres ferropénicas sólo 6 mujeres padecen anemia manifiesta, lo cual indica que existe una población mayor en estado de latencia o anemia precoz. Se observó que 5 de estas 6 mujeres pertenecen a la población de mujeres en edad fértil, este resultado podría estar relacionado con las pérdidas de hierro por causas fisiológicas anteriormente descritas. Asimismo se puede observar que la ferritina no está baja en todos los casos de anemia manifiesta como se esperaría, ya que en este punto entramos en un estado de agotamiento de los 3 compartimentos.

Por otra parte, nuestro análisis concuerda con el informe de la OMS, que evalúa la prevalencia de anemia en mujeres en edad reproductiva y sitúa a nuestro país en un rango de 20-40%.

Si bien la mayoría de los pacientes evaluados fueron del sexo femenino, también se detectó un porcentaje considerable de varones con deficiencia de hierro y anemia manifiesta (40%), lo que demuestra que la prevalencia de la anemia ferropénica no es exclusiva del sexo femenino, ni esta únicamente asociada a las pérdidas fisiológicas femeninas, al menos en la población estudiada. Podemos observar con respecto al parámetro “ferritina”, no se registraron pacientes con valores por debajo del límite inferior de referencia, solo valores normales o superiores.

Tanto en hombres como mujeres, se evidenció que muchos pacientes con anemia manifiesta presentan ferritina normal o incluso elevada. Al ser esta una proteína de fase aguda, se pone en discusión su utilidad como marcador fehaciente de depósito de hierro.

Perspectivas:

Los resultados obtenidos en el presente trabajo podrían estar influenciados por factores socioeconómicos, como una dieta deficiente y un bajo aporte de hierro, aspectos especialmente relevantes dado que se trata de una población en estado vulnerable. Además, un efector como el Hospital Provincial del Centenario recibe pacientes con patologías de base de diferente complejidad, lo que podría aumentar la prevalencia de este y otros tipos de anemia.

Estos hallazgos subrayan la necesidad de implementar estrategias de prevención como diagnóstico precoz y educación nutricional, con el objetivo de evitar complicaciones y sintomatología sostenida en el tiempo como las ya descritas, que afecten la calidad de vida de los pacientes.

Es importante señalar la importancia de contar con información sobre la historia clínica de los pacientes como hábitos alimenticios, presencia de enfermedades de base que afecten los niveles de hierro, historia familiar de anemias, síndrome de malabsorción, entre otros, así como medicación que consumen. Con mayor información podrían diagnosticarse otras anemias microcíticas planteadas en el marco teórico.

En el caso de las anemias con VCM normal, podrían evaluarse parámetros como ácido fólico y vitamina B12 que en combinación con el déficit de hierro dan lugar a anemias pluricarenciales normocíticas.

Por último es de gran importancia tener una comunicación abierta, colaborativa y multidireccional entre profesionales de la salud, con el fin de abordar de manera integral el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la anemia ferropénica.

BIBLIOGRAFÍA

Becker K., Ana. (2001). Interpretación del hemograma. *Revista chilena de pediatría*, 72(5), 460-465. Recuperado el 31 de julio de 2025 de <https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062001000500012>.

Bernadette Rodak, F., George Fritsma A., Keohane EM.,(2014) Hematología fundamentos y aplicaciones clínicas.

Donato, H (2016) Deficiencia de hierro y anemia ferropénica. Guía para su prevención, diagnóstico y tratamiento. Recuperado el 31 de julio de 2025 de https://www.sap.org.ar/docs/pdf/consensos_deficiencia-de-hierro-y-anemia-ferropenica-guia-para-su-prevencion-diagnostico-y-tratamiento--71.pdf

Donato,H.,Cedola,A.,Rapetti, MC.,Buys, MC.,Gutiérrez, M.,Parias Nucci, R., Rossi N., Schvartzman, G. (2009). Anemia ferropénica. Guía de diagnóstico y tratamiento . Archivos argentinos de pediatría, 107(4), 353-361_Recuperado el 31 de julio de 2025 de https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752009000400014&lng=es&tlng=es

World Health Organization (2023) Anaemia in women of reproductive age (aged 15-49), prevalence (%), by pregnancy status. Recuperado el 31 de julio de 2025 de [https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-anemia-in-women-of-reproductive-age-\(-\)](https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/prevalence-of-anemia-in-women-of-reproductive-age-(-)).



Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas
2025



Exposición prenatal a cocaína: prevalencia y alternativas metodológicas

Autora: Ayelén Milagros Giordano

Tutora: Bioq. María Lorena Micucci

Docentes y coformadores: Bioq. Betiana Gándara, Med. Esp. Alejandro Maccarrone

Institución de rotación: Sala 9 - Hospital Provincial del Centenario

PRESENTACIÓN

El consumo problemático de sustancias psicoactivas se considera un fenómeno multicausal en el cual intervienen diversos factores: históricos, sociales, económicos, culturales y políticos (Ministerio de Salud, 2022). Durante las últimas décadas, se ha observado un aumento de este fenómeno sociosanitario en mujeres en edad fértil y gestantes. Es por ello que la detección temprana contribuiría a disminuir o evitar los efectos nocivos sobre la salud materna, fetal o neonatal; así como también reducir el impacto social y los costos que representan para el sistema de salud (Suárez et al., 2009).

Son múltiples las muestras con pedido de detección de drogas en orina provenientes del servicio de Neonatología del Hospital Provincial del Centenario que llegan al Laboratorio Asistencial de Toxicología con asiento en dicho hospital. Este laboratorio pertenece al área de Toxicología de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FBioyF) dependiente de la Universidad Nacional de Rosario.

En el presente trabajo se determinó, de manera retrospectiva, la prevalencia de la exposición prenatal a cocaína mediante la revisión de los resultados de muestras de orinas neonatales que fueron analizadas por el Laboratorio Asistencial de Toxicología en el periodo comprendido entre el 1 de octubre de 2024 al 31 de marzo de 2025. De forma complementaria, se realizó una entrevista con personal del servicio de Neonatología para indagar acerca de los criterios de solicitud de la determinación y el abordaje del paciente neonatal con resultado positivo.

MARCO TEÓRICO

Aspectos químicos y toxicológicos de la cocaína

La cocaína es un alcaloide que se obtiene de las hojas de *Erythroxylon coca*, químicamente es una 2-metil-3-bencilecgonina. Habitualmente es consumida en su forma de clorhidrato de benzoilecgonina, que se caracteriza por su fácil absorción a través de las mucosas (oral, nasal, gastrointestinal, rectal, uretral y vaginal) (Gisbert Calabuig, 2012). Otras formas de consumo son a través de las hojas de coca, pasta base de cocaína (sulfato de cocaína), crack (cocaína base) y paco (cocaína base libre de baja calidad) (Lizasoain et al., 2002).

La cocaína al ser una sustancia liposoluble atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica, alcanzando el sistema nervioso central y actuando en el mismo. Este neurotóxico provoca un bloqueo de la recaptación presináptica de dopamina, noradrenalina y serotonina lo que

facilita la acumulación de estos neurotransmisores en la hendidura sináptica. Otros efectos son el bloqueo de los canales de potasio y la disminución de la permeabilidad de la membrana a los iones sodio, esto último produce un bloqueo de la conducción nerviosa siendo responsable de su carácter de anestésico local (Gisbert Calabuig, 2012).

La intoxicación aguda presenta una clínica muy variable que puede ir desde síntomas de excitación hasta depresión del sistema nervioso central, pasando por euforia, verborrea, escalofríos, hiperactividad, midriasis, convulsiones, arritmias, hipertensión. Pueden aparecer psicosis paranoides con una alta carga de agresividad (Gisbert Calabuig, 2012).

La cocaína es rápidamente metabolizada por el organismo, generalmente por hidrólisis enzimática para producir benzoilecgonina, ecgonina metil ester y posteriormente ecgonina. En orina, la benzoilecgonina es el metabolito de elección para la detección de consumo de cocaína. Esta puede ser detectada alrededor de 3 días después del último consumo dependiendo de la cantidad administrada y del cut-off de la técnica utilizada. Cabe aclarar que la vía de administración también es un factor que influye en la cantidad de benzoilecgonina plasmática, y en consecuencia, la excretada en orina. Las máximas concentraciones plasmáticas se producen después de administraciones nasales u orales, mientras que, cuando se fuma las concentraciones son menores (Lizasoain et al., 2002).

Consumo de cocaína durante el embarazo y su repercusión en el recién nacido

El consumo de sustancias psicoactivas y las complicaciones derivadas del mismo es una problemática en las áreas de obstetricia y neonatología. El consumo problemático por parte de la gestante durante el embarazo se ha asociado, en la literatura científica, a teratogénesis (Botella, 2004). Es importante destacar que existe una dificultad metodológica para establecer la relación causal entre una sustancia y los efectos adversos en el desarrollo embrio-fetal debido a la imposibilidad de “aislar” el efecto de la sustancia de abuso respecto de otros factores ambientales como pueden ser policonsumo de sustancias o fármacos, malnutrición materna, exposición materna a otras enfermedades, entre otros (Ministerio de Salud, 2024; Mur Sierra et al., 2002).

La cocaína atraviesa fácilmente la placenta, alcanzando hasta el 80% de las concentraciones plasmáticas maternas, y al ser su eliminación más lenta representa mayor toxicidad para el feto (Mur Sierra et al., 2002). Podemos dividir su efecto teratogénico como directo o indirecto. Dentro de los efectos indirectos encontramos una fuerte asociación a fenómenos

de vasoconstricción, por lo que en el contexto de un embarazo, causan disminución de la irrigación y oxigenación fetal, uterina y placentaria (Botella, 2004). Estudios histopatológicos a nivel placentario revelan la presencia de trombosis in situ, infartos y hemorragias focales (Ministerio de Salud, 2024). La hipoxia y la falta de llegada de nutrientes trae consecuencias tanto en el periodo de organogénesis como en el segundo y tercer trimestre, siendo este último donde ocurre el mayor crecimiento fetal en condiciones normales (Botella, 2004; Mur Sierra et al., 2002). El consumo de grandes dosis de cocaína durante el último trimestre se ve reflejado como valores bajos de Apgar, peso, talla y perímetro craneal; así como también mayor frecuencia de sufrimiento fetal agudo, prematuridad, retraso del crecimiento intrauterino, enterocolitis necrotizante, infarto cerebral, convulsiones, anomalías cardíacas, renales y distintas malformaciones congénitas, entre otras (Ministerio de Salud, 2024; Mur Sierra et al., 2002).

Por otro lado, la experimentación con animales demuestra que la cocaína es neurotóxica para el cerebro en desarrollo, por lo tanto, los efectos directos están constituidos por la acción de la cocaína o sus metabolitos en los sistemas de neurotransmisión del cerebro fetal. La sobreestimulación de estos sistemas puede producir anomalías en los patrones de proliferación, diferenciación y migración neuronal, que son parcialmente controlados por estos sistemas de neurotransmisión. También pueden causar alteraciones persistentes en la respuesta celular y alteraciones secundarias que contribuyan a déficits conductuales. En la literatura se han descrito tres patrones de afectación neurológica propia de la exposición prenatal a cocaína: “excitable”, “deprimido” y “mixto”. Los efectos a medio y largo plazo asociados a la exposición prenatal a cocaína son diversos y los resultados son poco concluyentes, debido a cuestiones metodológicas explicadas anteriormente (Botella, 2004). Los recién nacidos cuyas madres consumieron cocaína durante el embarazo pueden presentar síndrome de abstinencia neonatal (SAN). El SAN es un trastorno multisistémico generalizado, que involucra predominantemente el sistema nervioso central y autónomo, así como al tracto gastrointestinal. Se considera como una consecuencia de la interrupción brusca de la exposición fetal crónica a sustancias que fueron utilizadas por la madre durante el embarazo; no obstante, algunos autores indican que en realidad el SAN es la presencia de la sustancia psicoactiva en el sistema nervioso central (Ministerio de Salud, 2024). Los signos incluyen irritabilidad, nerviosismo, dificultad para dormir, temblores y llanto excesivo; la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, el tono muscular y otras respuestas

fisiológicas a estímulos se presentan deterioradas, debido a la desregulación y a la inestabilidad del sistema nervioso autónomo. Se deben descartar trastornos metabólicos como hipoglucemia, hipocalcemia e hipomagnesemia, o procesos sépticos. Antes de comenzar un tratamiento para el SAN, siempre se debe realizar un hemograma y un análisis bioquímico que incluya reactantes de fase aguda. Para los neonatólogos es muy útil la escala de Finnegan para la valoración del síndrome (Ministerio de Salud, 2024; Botella, 2004).

Detección de cocaína en diferentes matrices biológicas y su utilización en Neonatología

Desde el punto de vista del rol del laboratorio bioquímico, la detección de la exposición prenatal a neurotóxicos es fundamental para el tratamiento y seguimiento del niño. Son múltiples las matrices biológicas donde se puede detectar el consumo de cocaína durante el embarazo, entre ellas están:

- Orina de la madre y el recién nacido (sensibilidad del 37 %): es la utilizada en la mayoría de los laboratorios debido a que su recolección no es invasiva y concentra grandes cantidades de tóxicos y sus metabolitos (en el caso de cocaína es la benzoilecgonina). Sólo detecta consumo si ocurrió dentro de las 72 horas previas, lo que representa su principal limitación (Mur Sierra et al., 2002).
- Cabello de la madre (sensibilidad del 100%): su principal ventaja, además de su fácil recolección, es que detecta el consumo retrospectivamente durante un largo período de tiempo. Se debe tener en cuenta que el cabello crece 1 cm por mes, lo que permite la detección de consumo previo de meses o años. Proporciona una estimación directa de la exposición materna a drogas (activa y también pasiva), pero sólo una estimación indirecta de lo que llega al feto a través de la placenta. Otra limitación es la posible interferencia con productos cosméticos, ya que pueden alterar el resultado del análisis (Mur Sierra et al., 2002; García-Serra et al., 2012).
- Meconio (sensibilidad del 87%): su obtención es fácil y no invasiva. En dicha matriz, la droga se acumula en altas concentraciones y puede detectarse hasta los 3 días tras el parto (Mur Sierra et al., 2002). Fisiológicamente los neurotóxicos y sus metabolitos alcanzan el meconio por varias vías:

15. Difusión a través del transporte sanguíneo.

16. Deglución del líquido amniótico en aquellas sustancias excretadas por la piel, riñón y defecación fetal.
17. Excreción en el tracto intestinal a través de la bilis después de su metabolismo hepático u otras secreciones intestinales.

El meconio es metabólicamente inerte, lo que significa que una vez que los tóxicos o metabolitos alcanzan el meconio permanecen “fossilizados”, permitiendo su estudio posterior (Ortega García et al., 2004). Cabe mencionar que la formación de meconio se inicia entre las 12 y 16 semanas de gestación, razón por la cual, la detección de sustancias psicoactivas en éste corresponde a posibles consumos en los últimos dos trimestres del embarazo (García-Serra et al., 2012). Por todo lo anteriormente nombrado, es la matriz ideal para la detección de exposición prenatal a cocaína (Mur Sierra et al., 2002).

METODOLOGÍA

El abordaje del presente trabajo contempla la evaluación retrospectiva de las muestras recibidas en el Laboratorio Asistencial de Toxicología junto con una instancia de entrevista.

- Recolección de datos y estrategias de selección

Se recopilaron los registros obtenidos en el sistema Cobas Infinity®, software de Roche utilizado para el manejo y validación de resultados en el laboratorio clínico. Dentro del caudal de información obtenida, se filtró según la edad (menores a un año), sala de procedencia (neonatología), determinación pedida (cocaína en orina) y el resultado de la misma. Es importante aclarar que se realizó la exclusión de muestras repetidas en el mismo día.

- Metodología aplicada para el análisis de drogas en orina

El laboratorio asistencial de Toxicología utiliza el Multi-Drug One Step Screen Test Panel (Urine) de ABON como método de tamizaje para la detección simultánea de múltiples drogas y sus metabolitos. Dicho test es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección de las siguientes drogas: Anfetamina (AMP), Barbitúricos (BAR), Benzodiazepinas (BZO), Cocaína (COC 150), Marihuana (THC), Morfina (MOP), Opiáceos (OPI), Fenciclidina (PCP), antidepresivos Tricíclicos (TCA) y Metilenedioximetanfetamina (MDMA) (Abon, 2018).

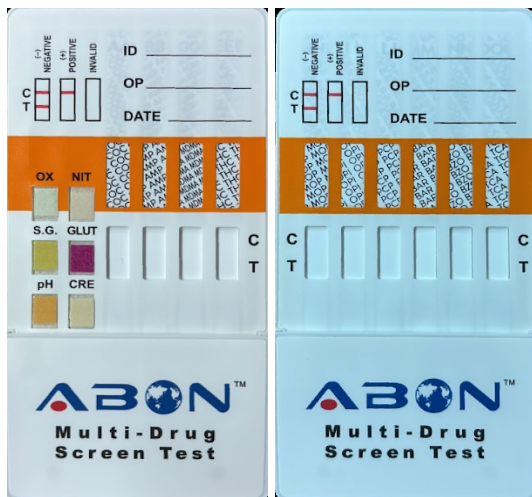


Figura 1. Fotografías de frente y reverso del test utilizado en el laboratorio.

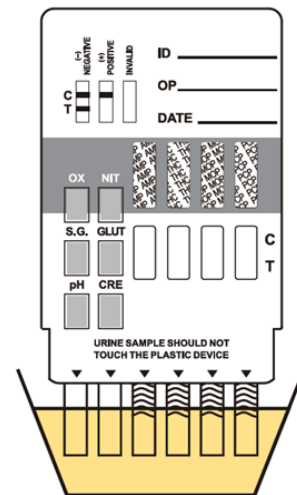


Figura 2. Esquema ilustrativo del modo de uso del test.

Como se aclaró anteriormente, el ensayo es una inmunocromatografía competitiva. El fundamento de la misma se basa en que las drogas (o sus metabolitos) presentes en la orina compiten, frente a los respectivos conjugados, por los puntos de unión al anticuerpo (Abon, 2018).

Durante la prueba, la muestra de orina migra por acción capilar. De esta manera, junto al frente de corrida avanzan los posibles analitos a estudiar. Cualquier droga o metabolito que se encuentre en concentraciones mayores a la del cut-off saturará todos los puntos de unión a los anticuerpos, lo que se traduce como ausencia de formación de una línea de color. Mientras que, una muestra negativa o con concentraciones menores al cut-off no saturará los puntos de unión al anticuerpo, permitiendo la unión del conjugado a los mismos que se observará macroscópicamente como una línea de color (la intensidad del color de la línea de prueba puede variar, se considera negativo cualquier coloración roja por más débil que sea). Es importante recordar que la ausencia de la aparición de la línea control invalida la prueba (Abon, 2018).



Figura 3. Esquema ilustrativo de posibles resultados del test.

El panel de multidroga de ABON utilizado permite, además de lo ya mencionado, evaluar posibles adulteraciones o diluciones de la muestra de orina con el objetivo de alterar los resultados, causando falsos negativos. El test cuenta con esponjas reactivas que al entrar en contacto con la orina cambian de color brindando un resultado semicuantitativo de pH, gravedad específica (densidad), nitritos, creatinina y glutaraldehído. Además, evalúa cualitativamente la presencia o ausencia de oxidantes/PCC (Abon, 2018).

En cuanto a la detección específica de cocaína en el test anteriormente mencionado, se detecta la misma y sus metabolitos, todos con diferentes niveles de cut-off. Se detalla a continuación las moléculas identificadas y sus correspondientes cut-off en el ensayo COCAÍNA 150:

- Benzoilecgonina: 150 ng/ml
- Cocaína: 400 ng/ml
- Cocaetileno: 6.250 ng/ml
- Ecgonina: 12.500 ng/ml
- Ecgonina metilester: 50.000 ng/ml

Cabe señalar que dicho análisis proporciona un resultado preliminar cualitativo. Para obtener la confirmación de un resultado deben utilizarse otros métodos como cromatografía gaseosa o espectrometría de masas, ya que se consideran más específicos (Abon, 2018).

- Entrevista: Criterios de solicitud para el análisis de drogas en orina de neonatos

Para conocer los criterios empleados para la solicitud de detección de drogas en orina se realizó una breve entrevista al Dr. Alejandro Maccarrone, quien es jefe de servicio de Neonatología del Hospital Provincial del Centenario. A continuación se detallan algunas de las preguntas y sus correspondientes respuestas.

- *¿Cuáles son los criterios que toma el servicio de Neonatología para solicitar análisis de detección de cocaína en el recién nacido?* Los criterios son más que nada maternos. Si la madre o su entorno refiere consumo de sustancias, o bien, por el comportamiento de la gestante en el momento del parto, por ejemplo, si se encuentra muy excitada o demandante o por el contrario se encuentra deprimida durante el mismo. En estos casos se suele pedir la detección de drogas en orina

primero a la madre, y luego si da positivo se la pide al neonato. Sin embargo, en muchos casos se pide directamente al binomio madre-hijo. Es importante destacar que existen mujeres, que aunque estén bajo los efectos de esta sustancia psicoactiva, no muestran alteraciones en su comportamiento.

- *Frente a un resultado positivo ¿Qué abordaje se hace en el recién nacido?* Los pacientes quedan internados en neonatología por un periodo de 7 días para su monitoreo, durante ese tiempo se evalúan los síntomas de abstinencia neonatal mediante la escala de Finnegan. Además, reciben apoyo en el mantenimiento de sus funciones vitales; un ejemplo de esto es cuando los pacientes no logran coordinar la succión y, por lo tanto, no consiguen alimentarse por sí solos. También pueden requerir terapia farmacológica. Una vez que obtienen el alta, estos niños entran en el Programa de Seguimiento de Alto Riesgo Neonatal con el objetivo de evaluar posibles trastornos en el desarrollo. El Dr. Maccarrone destacó el abordaje interdisciplinario junto a los equipos de Salud Mental y Trabajo Social del hospital con el objetivo de garantizar el bienestar del binomio madre-hijo.
- *En caso de un resultado negativo en el neonato pero positivo en la madre ¿El paciente recibe el mismo abordaje y tratamiento que en el caso anterior?* En situaciones así se deja al recién nacido en observación y se pide nuevamente la determinación de drogas en orina.
- *¿Se han presentado casos donde pese a que el neonato tenga un resultado negativo de cocaína en orina sigue habiendo una fuerte sospecha de consumo durante el embarazo?* Existen casos donde, si bien hay un resultado negativo para cocaína en el binomio mamá-bebé, pudo ocurrir consumo de la sustancia psicoactiva durante el embarazo. Muchas mujeres dejan el consumo al enterarse que están gestando.
- *¿Considera necesario contar con una metodología diagnóstica que evidencie exposición a cocaína durante el período fetal?* Sí sería útil, ya que lo que se detecta actualmente sería la “punta del iceberg”. El uso de otra metodología o matriz, por ejemplo el meconio, permitiría evidenciar consumo de manera retrospectiva y poder hacer un mejor seguimiento al recién nacido.

RESULTADOS

En el período comprendido entre el 1 de octubre de 2024 y el 31 de marzo de 2025, el Laboratorio Asistencial de Toxicología realizó un total de 355 solicitudes de detección de tóxicos en orina provenientes de distintos servicios del Hospital Provincial del Centenario. Estos datos fueron recopilados, y con las muestras neonatales se armaron dos grupos: cocaína positiva (COC+) y cocaína negativa (COC-) obteniéndose los resultados descritos a continuación.

De los 355 pedidos de detección de tóxicos en orina que ingresaron al laboratorio, 25 correspondían a muestras provenientes del servicio de Neonatología, representando el 7% del total de muestras.

Origen de las solicitudes

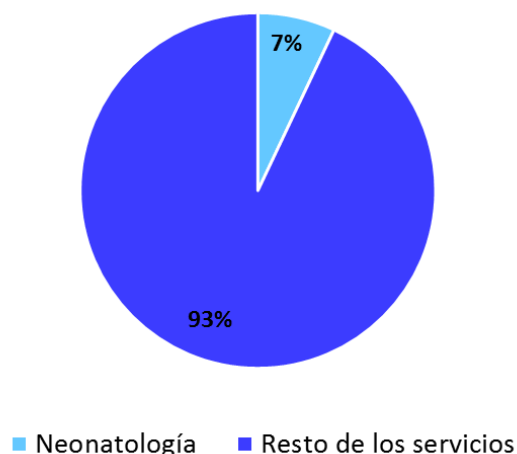


Gráfico 1. Origen de las solicitudes para determinación de tóxicos en orina.

Dentro de los 25 recién nacidos con pedido de tóxicos en orina, 8 tuvieron un resultado positivo para cocaína (COC+), representando un 32% de las muestras provenientes de Neonatología. Los 17 pedidos restantes fueron negativos (COC-), constituyendo un 68%.

Determinación de cocaína en orinas de neonatos

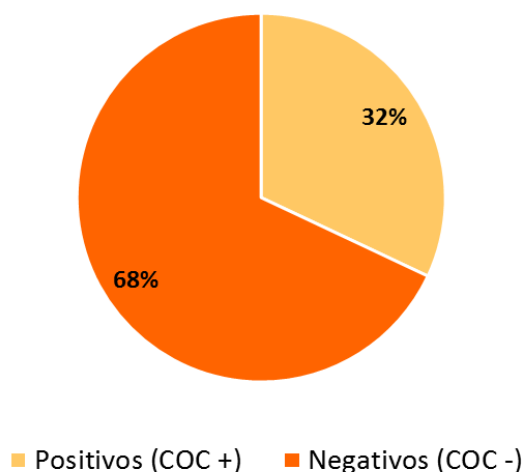


Gráfico 2. Determinación de cocaína en orinas de neonatos.

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos revelan una elevada prevalencia de exposición fetal a cocaína representando aproximadamente un tercio de las muestras de orina neonatales que llegan al Laboratorio Asistencial de Toxicología. No obstante, dentro del 68% de negativos, permanece la posibilidad que existan casos subdiagnosticados de consumo de cocaína durante la gestación, y que por las limitaciones analíticas no se lograron detectar.

Los datos anteriormente mencionados reflejan apenas una porción visible del problema, tal como lo expresó el Dr. Maccarrone, funcionando como la “punta del iceberg” frente a una conducta que muchas veces no se declara ni se pesquisa por los métodos urinarios de tamizaje. En otras palabras, sólo se detecta consumo en aquellos casos con resultados positivos para cocaína en orina, sin embargo, dicha matriz solo evidencia intoxicación reciente de hasta 72 horas. De esta manera, no se logra demostrar la posible exposición fetal a la sustancia psicoactiva. En consecuencia, no se le puede brindar el tratamiento y seguimiento adecuado a los pacientes, siendo un gran riesgo para ellos.

El uso en el laboratorio clínico de métodos de cribado más sensibles podría optimizar el manejo de los recién nacidos expuestos, beneficiándolos ampliamente. El empleo de meconio como matriz biológica de elección sería una alternativa interesante para subsanar el problema planteado. La detección de cocaína en meconio refleja el uso de la misma al menos en el segundo y tercer trimestre de gestación, siendo esto su principal ventaja.

PERSPECTIVAS

En el Laboratorio Asistencial de Toxicología del Hospital Provincial del Centenario sería muy beneficioso la puesta a punto e implementación del uso de meconio como matriz de elección para pruebas de screening.

Finalmente, siempre es importante destacar el aspecto social de esta problemática. Se requiere capacitación continua de todos los participantes del equipo de salud, incluidos los bioquímicos, para contar con las herramientas que permitan abordar estos casos con una sólida base científica, con empatía, sin estigmas y sin una postura punitiva.

BIBLIOGRAFÍA

Abon Biopharm. (2018). *Ficha técnica de la prueba rápida en una sola etapa para la detección cualitativa simultánea de drogas múltiples y sus metabolitos en orina humana*.

Botella, H. C. (2004). Maternidad, infancia y drogas: implicaciones clínicas. *Revista Adicciones*, 16(4), 1–20. <https://doi.org/10.20882/adicciones.395>

García-Serra, J., Ramis, C., Simó, S., Joya, X., Pichini, S., Vall, O., & García-Algar, O. (2012). Matrices biológicas alternativas para detectar la exposición prenatal a drogas de abuso en el tercer trimestre de la gestación. *Revista Anales de Pediatría*, 77(5), 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2012.02.019>

Gisbert Calabuig, J. A. (2012). *Medicina legal y toxicología* (6.ª ed.). Masson.

Lizasoain, I., Moro, M. A., & Lorenzo, P. (2002). Cocaína: aspectos farmacológicos. *Revista Adicciones*, 14(1), 57–64. <https://doi.org/10.20882/adicciones.513>

Ministerio de Salud. (2022). *Recomendaciones para la prevención del consumo perinatal de sustancias psicoactivas y para la contención y cuidado de las personas afectadas*. https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bancos/2022-11/Recomend.consumos%20problematicos_perinatales.pdf

Ministerio de Salud. (2024). *Recomendaciones para el cuidado de la persona recién nacida afectada por el consumo problemático de sustancias psicoactivas durante la gestación*. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2021/01/recomendaciones-rn-consumo-sustancias.pdf>

Mur Sierra, A., García-Algar, O., & López Segura, N. (2002). Toxicidad de la cocaína en el recién nacido: Detección y prevalencia. Identificación de factores de susceptibilidad. *Anales de Pediatría*, 56(3), 241–246. [https://doi.org/10.1016/S1695-4033\(02\)77790-4](https://doi.org/10.1016/S1695-4033(02)77790-4)

Ortega García, J. A., Carrizo Gallardo, D., Ferrís i Tortajada, J., Marco Macián, A., & Grimalt, J. O. (2002). Meconio y exposición prenatal a neurotóxicos. *Revista Española de Pediatría*, 60(4), 291–296. <https://www.seinap.es/wp-content/uploads/Revista-de-Pediatria/2004/REP%2060-4.pdf>

Suárez, A., Peirano, A., González, I., Odierna, E., Gait, N., Llebeili, R., & Hansen, C. (2009). Investigación de cocaína y marihuana en meconio de neonatos atendidos en un hospital público: Primera experiencia realizada en la ciudad de Córdoba, Argentina. *Acta Toxicológica Argentina*, 17(2), 41–47. <http://www.toxicologia.org.ar/wp-content/uploads/2016/05/Volumen-17-Nro-2-Diciembre-2009.pdf>

TRABAJO FINAL
PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA
CARRERA DE BIOQUÍMICA 2025

Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido por
Incompatibilidad RhD: Estudio de Caso y
Abordaje Inmunohematológico

Alumno: Ferrero Florencia Belén

Tutora: Orlandi María Florencia

Sala 9, Hospital Provincial del Centenario

PRESENTACIÓN

Se remiten al laboratorio de Inmunohematología del Hospital Provincial del Centenario dos muestras de sangre entera provenientes de un Sanatorio Privado de la ciudad de Rosario. Las mismas se tratan de un paciente recién nacido y de su madre, éste primero con sospecha de Enfermedad Hemolítica Fetoneonatal (EHFN) ante un resultado positivo para la Prueba de Coombs Directa (PCD) y sintomatología clínica concordante.

Se procede a determinar los grupos sanguíneos ABO y Rh por pruebas directas a la muestra del neonato, así como también la PCD y el fenotipo extendido Rh. Luego, se continúa con el estudio de la muestra de la madre del paciente, el cual consiste en la determinación de los grupos sanguíneos ABO y Rh mediante pruebas directas e inversas, el fenotipo extendido Rh y la búsqueda de anticuerpos irregulares.

MARCO TEÓRICO

El sistema Rh es un sistema de grupo sanguíneo, junto con el sistema ABO, de mayor importancia clínica en el área de Medicina Transfusional y Obstetricia. Estos sistemas están implicados en la aloinmunización de pacientes politransfundidos, en la patogénesis de la EHFN y en algunas Anemias Hemolíticas Autoinmunes.

El sistema Rh es el más complejo y polimórfico de la membrana eritrocitaria y está compuesto por 56 antígenos definidos por anticuerpos específicos. A diferencia del sistema ABO, es específico de la línea eritroide, se expresa en glóbulos rojos de cordón y de adulto, y carece de formas solubles en las secreciones. Su función biológica es estructural, mantiene la arquitectura de la membrana del glóbulo rojo y se cree que también tiene función de proteína transportadora de gases como el NH_4 y CO_2 .

El locus *RH* es la ubicación en el ADN que contiene la información genética del sistema Rh. Éste se encuentra en el cromosoma 1 y está compuesto por dos genes: el gen *RHD* y el gen *RHCE*, ambos tienen 10 exones, están dispuestos en *tándem*, es decir, uno a continuación del otro, y presentan alto porcentaje de homología entre ellos.

El gen *RHD* está flanqueado por dos regiones con un 98,6% de homología denominadas “cajas Rhesus”, que tienen un papel primordial en la formación del

haplotipo *RHD* negativo. La delección del gen *RHD*, responsable del fenotipo D negativo se produjo, probablemente, por el entrecruzamiento desigual de las cajas Rhesus de dos haplotipos *RH* mal alineados en “*trans*”, lo que dio lugar a una caja Rhesus híbrida y a la delección del gen *RHD*. Los individuos con fenotipo D positivo pueden ser homocigotos para el gen *RHD*, o hemicigotas, es decir que tienen una sola copia del gen.

Tras el conocimiento de la base molecular del locus *RH* se han descubierto casos con las bases moleculares de diferentes fenotipos Rh(D), incluidos los fenotipos D parcial y D débil. Los glóbulos rojos portadores de un fenotipo D débil poseen un menor número de sitios antigénicos que los eritrocitos D positivo, mientras que los portadores del fenotipo D parcial se caracterizan por la ausencia de uno o más epítopes del antígeno D.

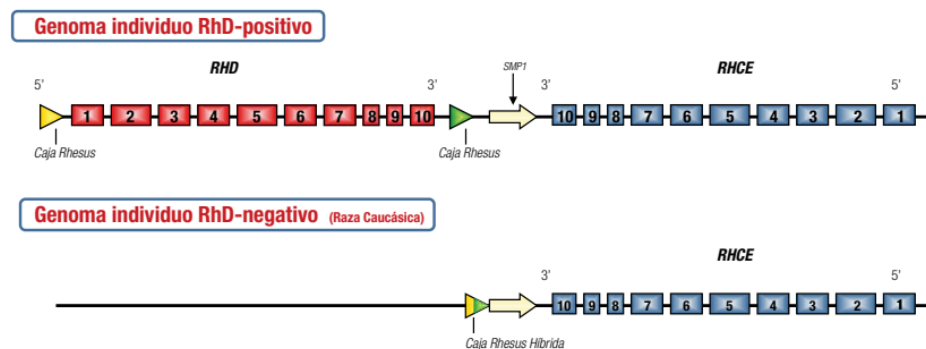


Figura 1. Genes *RHD* y *RHCE*

Las proteínas codificadas por estos genes atraviesan la membrana 12 veces formando 6 dominios extracelulares y están asociadas al citoesqueleto, lo cual explica su función estructural.

- La proteína codificada por el gen *RHD* se denomina RhD y es transmembranal. Sobre la cara externa de esta proteína se encuentra el antígeno D, el cual es estudiado como un mosaico de epítopes.

- El gen *RHCE* codifica para la proteína transmembranal RhCE, la cual porta los epítopes C/c en el segundo dominio extracelular, y los epítopes E/e en el cuarto dominio extracelular.

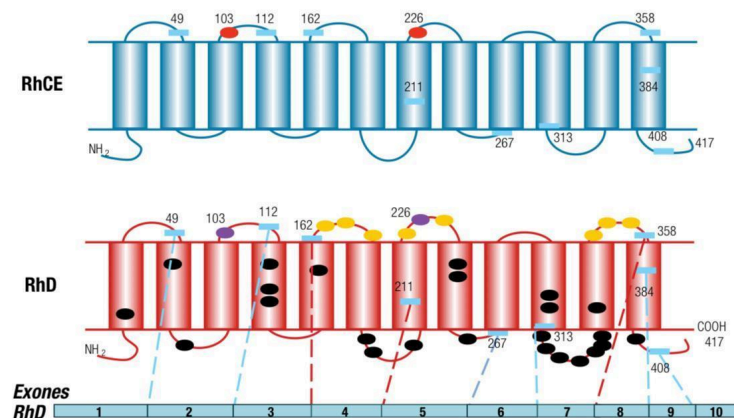


Figura 2. Disposición transmembranal de las proteínas RhD y RhCE

Este sistema no posee anticuerpos regulares y naturales, sino que estos provienen de una aloinmunización la cual es estimulada por embarazo, transfusiones o trasplante. Se consideran como anticuerpos irregulares o aloanticuerpos ya que son producidos por individuos que han desarrollado una respuesta inmune ante la presencia de glóbulos rojos con antígenos del sistema Rh, desconocidos para el mismo. Estos anticuerpos son de clase IgG y todos los que se producen en respuesta a antígenos de este sistema son clínicamente significativos ya que conducen a la destrucción inmune de los glóbulos rojos (1).

Como mencionamos anteriormente, una de las consecuencias clínicas más severas es la EHFN. Se trata de un trastorno sanguíneo debido a la presencia de anticuerpos anti-D maternos que atraviesan la placenta, se unen a los glóbulos rojos del bebé y promueven su eliminación por el sistema inmune, causando anemia, ictericia, hepatomegalia o esplenomegalia y edema. En casos severos puede llevar a insuficiencia cardíaca o respiratoria o la muerte del feto.

Según la Ley Nacional 23.674, las embarazadas RhD negativas no inmunizadas deben recibir inmunoglobulina anti-D como profilaxis de la isoimmunización Rh. La administración de esta inmunoglobulina se realiza en la semana 28 del embarazo y tras el nacimiento de un hijo RhD positivo. El objetivo de este tratamiento es neutralizar los glóbulos rojos fetales RhD positivos antes que el sistema inmune de la madre los reconozca, evitando de esta manera la sensibilización. Esta profilaxis ha permitido disminuir la incidencia de la aloinmunización anti-D, sin embargo persiste como una causa importante de morbilidad fetal y neonatal (2).

En caso de EHFN, existen diferentes estrategias a implementar según el grado de afección desde fototerapia, transfusión simple, exanguinotransfusión, y en casos específicos las inmunoglobulinas intravenosas pueden ser eficientes. Todo ello acompañado de monitoreo estrecho y soporte en unidades neonatales especializadas (3).

RESULTADOS

PROTOCOLO DE ESTUDIO PRENATAL EN LA EMBARAZADA

1) Tipificación ABO y Rh(D)

La tipificación ABO se efectuará a través de las pruebas directa e inversa y simultáneamente se tipifica el antígeno D del sistema Rh.

Muestras: Se utiliza una muestra recién extraída y recolectada en un tubo seco o con anticoagulante (utilizando citrato o EDTA como anticoagulante).

Reactivos: Reactivos monoclonales (de clase IgM) anti-A, anti-B y anti-AB. Reactivo anti-D (blend IgG/IgM). Reactivo de Coombs poliespecífico o antiglobulina humana total (AGH). Panel ABO: suspensiones de glóbulos rojos (GR) tipificados como A, B y O al 2-5% en solución fisiológica (SF).

Prueba directa:

- En 4 tubos de vidrio limpios y rotulados, enfrentar volúmenes iguales (1 gota) de una suspensión de GR al 2-5% en SF del paciente con el antisuero correspondiente: anti-A, anti-B, anti-AB y anti-D.
- Centrifugar 1 minuto a 1000 rpm y leer aglutinación.

Prueba inversa:

- En 3 tubos de vidrio limpios y rotulados, enfrentar volúmenes iguales (1 gota) de suero del paciente con suspensiones al 2-5% en SF de GR A, GR B y GR O según corresponda (panel ABO).
- Centrifugar 1 minuto a 1000 rpm y leer aglutinación.

Prueba de Coombs Indirecta para verificación fenotipos D negativos y D variante:

- En un tubo limpio, enfrentar 2 gotas de la suspensión de GR al 2-5% en SF del paciente con 2 gotas de anti-D. Incubar 30 minutos a 37 °C y luego lavar 3 veces con SF, descartando el sobrenadante. Agregar 1 gota del reactivo de Coombs.
- Centrifugar 1 minuto a 1000 rpm y observar aglutinación.

2) Investigación de aloanticuerpos o anticuerpos irregulares

Esta investigación tiene por objeto detectar anticuerpos (distintos del sistema ABO) contra los antígenos eritrocitarios que sean clínicamente significativos.

Muestras: suero o plasma (utilizando citrato o EDTA como anticoagulante).

Reactivos: Reactivo de Coombs poliespecífico o antiglobulina humana total (AGH) anti-IgG y anti-C3. Paneles comerciales de GR de grupo O de donantes únicos y composición antigénica conocida para los principales grupos sanguíneos, al 2-5% en SF en frascos de 10 mL:

- **Paneles selectores**: constituidos por 2 suspensiones eritrocitarias (viales I y II).
- **Paneles identificadores**: constituidos por 11 suspensiones eritrocitarias.

Detección e identificación de aloanticuerpos

Para la detección de aloanticuerpos, se enfrentan volúmenes iguales (1 gota) de suero del paciente y de los viales I y II del panel selector según corresponda, en 2 tubos de vidrio limpios y rotulados. Para la detección de anticuerpos irregulares de clase IgM, se realiza una lectura inmediata: centrifugar 1 minuto a 1000 rpm y leer aglutinación. En caso de resultado negativo, se continúa el estudio para la detección de aloanticuerpos de clase IgG incubando los tubos 30 minutos a 37 °C. Luego se realizan 3 lavados con SF. Finalmente, se agrega 1 gota del reactivo de Coombs, se centrifuga 1 minuto a 1000 rpm y se lee aglutinación.

Una vez realizada la detección de anticuerpos irregulares a través de un panel selector positivo, se estudiará la especificidad del mismo enfrentándolo con el panel identificador, en el mismo medio en el que fue detectado el anticuerpo.

Titulación de aloanticuerpos

Una vez identificado el anticuerpo se procede a semicuantificarlo a través de la titulación en el mismo medio en el cual se detectó.

Se preparan diluciones seriadas del suero y cada dilución se enfrenta al vial del panel selector con el que se haya obtenido resultado positivo. La aglutinación de los hematíes debe interpretarse como reacción positiva y el título se informa como la inversa de la última dilución donde se ha visualizado una reacción positiva.

PROTOCOLO DE ESTUDIO POSTNATALES EN EL RECIÉN NACIDO

1) Tipificación ABO y Rh(D)

En cuanto a la tipificación ABO en el recién nacido, sólo se realiza la prueba directa ya que aún no ha desarrollado las isohemaglutininas. En este caso, tanto la tipificación ABO como Rh se realizan de igual forma que para el adulto. Si las pruebas se estudian en sangre de cordón umbilical, se deben realizar 4 lavados con SF para eliminar la gelatina de Wharton.

2) Prueba de Coombs Directa

La PCD tiene como objetivo estudiar si hubo sensibilización de los hematíes *in vivo*. Se realizan 3 lavados con SF de la muestra de GR. Se prepara una suspensión eritrocitaria al 2-5% en SF y se enfrentan iguales volúmenes con el reactivo de Coombs en un tubo de vidrio. Se centrifuga 1 min a 1000 rpm y se observa aglutinación.

ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS

1) Estudio del fenotipo Rh extendido

Muestra: suspensión de GR al 2-5% en SF.

Reactivos: Anti-C, Anti-c, Anti-E y Anti-e.

Se enfrentan volúmenes iguales de muestra y reactivo en 4 tubos de vidrios limpios y rotulados. Se centrifuga 1 minuto a 1000 rpm y se lee aglutinación.

2) Técnicas de elución

Las técnicas de elución permiten romper las uniones antígeno-anticuerpo para su posterior análisis e identificación libre en el suero. Ante la sospecha de un aloanticuerpos de clase IgG, la técnica de elución de referencia es en medio ácido.

Técnica de elución ácida con kit comercial Diacidel:

- Lavar 1 vez los hematíes con SF y 4 veces con la solución de lavado Diacidel diluida 1:10 en agua destilada.
- Enfrentar partes iguales de los GR lavados con la solución de eluido de Diacidel.
- Centrifugar 1 minuto a 3000 rpm y transferir el sobrenadante a un tubo limpio (eluido).
- Añadir 5 gotas de Diacidel buffer al eluido, mezclar bien y observar cambio de coloración al azul (pH 6.5-7.5). En caso contrario, añadir más buffer (de a 1 gota) mientras se remueve bien.
- Centrifugar el eluido durante 1 minuto a 3000 rpm y proceder a realizar la técnica de detección de aloanticuerpos mencionada anteriormente utilizando el eluido (4).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PRENATALES EN LA EMBARAZADA

	Prueba directa				Prueba inversa		
Reactivo	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D	GR A	GR B	GR O
Intensidad de aglutinación	(.)	(.)	(.)	(.)	++++	++++	(.)
Interpretación	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	POS	NEG

Tabla 1. Resultados de pruebas prenatales en la embarazada

Interpretación: fenotipo O Rh negativo.

Fenotipo Rh extendido: ccee. Detección de aloanticuerpos de clase IgG positivo con aglutinación de +++ para viales I y II. El panel identificador permitió determinar la especificidad del aloanticuerpo como anti-D. Se registró un título de 4096.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS POSNATALES EN EL RECIÉN NACIDO

	Prueba directa				PCD
Reactivo	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D	AGH
Intensidad de aglutinación	(.)	(.)	(.)	++++	++++
Interpretación	NEG	NEG	NEG	POS	POS

Tabla 2. Resultados de pruebas posnatales en el recién nacido

Interpretación: fenotipo O Rh positivo.

Fenotipo Rh extendido: ccee. El estudio del eluido obtenido por elución ácida permitió identificar un aloanticuerpo de especificidad anti-D.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como conclusión del caso presentado, el paciente neonato con fenotipo O RhD positivo, presentó una PCD positiva de aglutinación total y elución con especificidad anti-D. Esto coincide con los resultados obtenidos de la madre con fenotipo O RhD negativo, donde tanto la especificidad de los anticuerpos identificados como el título pueden relacionarse a la clínica del paciente y los resultados obtenidos en el laboratorio. Con la información obtenida se confirma la incompatibilidad Rh entre el recién nacido y la madre.

La EHFN continúa representando un problema de salud perinatal relevante en América Latina. En esta región, las tasas estimadas de EHFN por aloinmunización RhD oscilan entre 0,05% y 0,5% de los nacidos vivos, y se presume que Argentina se encuentra dentro de este rango, dado que no existen datos oficiales actualizados. La falta de un sistema nacional de vigilancia o notificación obligatoria, dificulta conocer la verdadera magnitud del problema. Además, aunque existen centros de referencia y estudios de casos, los datos epidemiológicos son limitados y desactualizados.

Si comparamos estos datos con los brindados en el estudio de los casos de EHFN en países de altos ingresos, se puede destacar una prevalencia significativamente menor a la reportada para América Latina, con tasas de aproximadamente 0,0025%. Esta diferencia en el sur del continente americano puede explicarse por el acceso limitado a cuidados prenatales adecuados, fallas en la implementación de la profilaxis anti-D y carencias en educación sanitaria en sectores vulnerables (5).

Otro grupo de trabajo investigó la incidencia de anticuerpos anti-D y no anti-D de relevancia clínica en Croacia entre 2010 y 2023. Se observó que, si bien los anti-D continúan siendo los más frecuentemente asociados a EHFN, su prevalencia ha disminuido notablemente en los últimos años, lo cual se atribuye a la implementación de la inmunoprofilaxis. En paralelo, el estudio evidenció un aumento relativo en la frecuencia de anticuerpos no anti-D, entre los cuales los más frecuentes fueron

anti-c, anti-E y anti-K. Aunque su prevalencia es menor en comparación con los anti-D, estos aloanticuerpos no anti-D fueron responsables del 13% de los casos severos de EHFN, lo que evidencia su creciente relevancia clínica. Además, el estudio destacó que alrededor del 50% de las gestantes con aloanticuerpos distintos al anti-D tenían antecedentes de transfusiones sanguíneas, lo que resalta la necesidad de mejorar las prácticas transfusionales principalmente en mujeres en edades fértiles (6).

El estudio de esta patología ha permitido observar que, si bien la sensibilización materna anti-D ha disminuido por la implementación de la profilaxis, los anticuerpos no anti-D adquieren cada vez más relevancia en la EHFN.

PERSPECTIVAS

En la actualidad, la prevalencia de incompatibilidad Rh en mujeres embarazadas ha disminuido significativamente, en gran parte gracias a la implementación de estrategias de detección precoz y al fortalecimiento de los controles prenatales. No obstante, persiste la necesidad de asegurar una adecuada adhesión al *screening* inmunohematológico, dado que este constituye una herramienta esencial para el seguimiento clínico y la prevención de la aloinmunización materna.

La EHFN es una condición multifactorial en la que influyen variables biológicas como el anticuerpo involucrado, obstétricas como antecedentes de abortos, transfusiones o procedimientos invasivos y sociales como el acceso al sistema de salud o a la educación por parte de la madre. Por ello la prevención requiere un enfoque integral que abarque medicina, salud pública y educación.

La identificación temprana de mujeres RhD negativo, la correcta implementación de la profilaxis y el seguimiento adecuado en embarazos con antecedentes de aloinmunización dependen tanto del conocimiento del personal de salud como de las pacientes sobre el tema. En este sentido, promover campañas informativas, actualizar profesionales y fortalecer los sistemas de registros contribuiría significativamente a reducir esta enfermedad prevenible.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gutiérrez A. y colaboradores (2020). *Inmunohematología básica y aplicada* (2.^a Ed). Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional (GCIAMT). capítulos 1 y 5.
2. Ley 23.674 Salud pública: ley de profilaxis - mujeres embarazadas. (julio 2025). <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-23674-76>
3. Elalfy MS, Elbarbary NS y Abaza HW. (2010) *Early intravenous immunoglobulin in the treatment of Rh hemolytic disease of the newborn: a randomized controlled trial*. European Journal of Pediatrics. DOI: [10.1007/s00431-010-1310-8](https://doi.org/10.1007/s00431-010-1310-8)
4. Colleen A. Aronso y colaboradores (2018). *Manual Técnico 18^a edición*. Apéndice “Métodos” 2, 3 y 4.
5. Dias Corrêa M, Espino y Sosa S, Fernandes M, Carmo L, Watanabe de Oliveira R y Kanevsky G (2024). *Hemolytic disease of the fetus and newborn and Rhesus alloimmunization in Latin American countries: a scoping review*. BMC Pregnancy Childbirth. DOI: 10.1186/s12884-024-07044-3.
6. Dajak S, Papazovska A, Lukacevic J, Bradaric I, Odak P y Bogdanic D. (2025) *Factors Behind Decreased Red Cell Antibody and Hemolytic Disease of Fetus and Newborn Rates: Single Center Experience*. Matern Fetal Medicine. DOI: 10.1097/FM9.0000000000000279.

TACROLIMUS: usos, presentaciones y determinación

Autoras: Miranda, Valentina;
Zanello, Ernestina.

Tutora: Mendiando, Macarena.

Efectores: Sanatorio Británico.

Presentación

En el siguiente trabajo se desarrollará una descripción del medicamento “Tacrolimus”. Se abordarán temas como: tipo de medicamento, mecanismo de acción, efectos secundarios y métodos de análisis. Respecto a estos últimos, se hará énfasis en el utilizado en el Laboratorio del Sanatorio Británico.

Marco teórico

- ¿Qué clase de medicamento es TACROLIMUS?

El Tacrolimus (Tac) pertenece a un grupo de medicamentos llamados inmunosupresores. Es una lactona macrólida que se comporta como un potente y selectivo agente anti linfocitos T (Wallemacq, P. E., & Reding, R., (1993). Su acción consiste en disminuir la actividad del sistema inmunitario para evitar que ataque el órgano trasplantado (Jusko W. J., 1995).

- ¿Cuál es su mecanismo de acción?

Es un fármaco inmunosupresor del grupo de los **inhibidores de la Calcineurina**. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la activación de los linfocitos-T al unirse a la proteína intracelular FKBP12 (inmunofilina responsable de la transducción de señales) formando un complejo pentamérico con Ca^{2+} , Calmodulina y Calcineurina. La formación resultante inhibe la acción del Factor Nuclear de Células T activadas (NFAT), cuya expresión es necesaria para que la Interleucina-2 (IL-2) inicie la señalización de la activación de los linfocitos T (Kalt D. A., 2017).

En resumen, el fármaco inhibe eventos dependientes del calcio, como la transcripción del gen de la Interleucina-2, la activación de la óxido nítrico sintasa, la degranulación celular y la apoptosis.

- ¿Para qué se usa?

Se usa para **prevenir el rechazo** (ataque al órgano trasplantado por parte del sistema inmunitario de la persona que recibe el órgano) **en personas que han recibido un trasplante de riñón**. También se usa, junto con otros medicamentos, en trasplantes de hígado, pulmón y corazón.

Este medicamento tiene varias formas de presentación, tales como: cápsulas, gránulos para suspensión oral, cápsulas de liberación prolongada y tabletas de liberación prolongada para tomar por vía oral. Es importante considerar que cada una de estas cuentan con diferentes esquemas terapéuticos y aplicaciones.⁴

Respecto a las aplicaciones, las presentaciones orales o intravenosas, se pueden utilizar como profilaxis para: rechazo del trasplante en receptores de aloinjertos renales, hepáticos o de corazón, tratamiento del rechazo de aloinjertos resistente a los tratamientos con otros medicamentos inmunosupresores, prevención de la enfermedad injerto contra huésped, síndrome nefrótico resistente al tratamiento con esteroides, nefropatía lúpica como alternativa terapéutica a otros tratamientos convencionales, colitis ulcerosa refractaria a otros tratamientos, miastenia gravis, entre otras. Por otro lado, las formas tópicas suelen destinarse al tratamientos de brotes y de mantenimiento de la dermatitis atópica moderada a grave vía tópica en pacientes >2 años que no respondieron al tratamiento con corticoides tópicos. Considerar que los niños más pequeños generalmente requieren dosis de mantenimiento entre 1,5 - 2 veces mayores basándose en mg/kg que los niños mayores y los adolescentes para alcanzar niveles similares en sangre.

- Contraindicaciones, precauciones, efectos adversos e interacciones:

Es importante considerar la existencia de contraindicaciones, tales como: hipersensibilidad conocida a Tacrolimus, a otros macrólidos o a cualquiera de sus excipientes; riesgo de anafilaxia con la administración intravenosa por su contenido en aceite de ricino hidrogenado y polioxietilenado; además puede contener lactosa y, por lo tanto, se recomienda evitarlo en pacientes que presentan intolerancia hereditaria a galactosa o malabsorción de glucosa o galactosa.

Tras el inicio del tratamiento, deben realizarse ciertos controles de: presión sanguínea, electrocardiograma (ECG), estado neurológico y visual, niveles de glucosa en sangre (en ayunas), niveles de electrolitos (en particular de potasio), pruebas de funcionalidad hepática y renal, parámetros hematológicos, valores de coagulación y determinación de proteínas en plasma. Además se debe realizar una monitorización adicional de las concentraciones del fármaco durante los episodios

de diarrea. Tener en cuenta que se trata de un medicamento de aclaramiento lento, por lo que pueden pasar varios días antes de que los ajustes en la dosis se vean reflejados en sangre.

Además, se debe considerar la existencia del riesgo de hipertrofia ventricular o hipertrofia del *septum*, principalmente en niños con concentraciones mínimas de Tacrolimus en sangre más elevadas que los niveles máximos recomendados, en la mayor parte de los casos reversibles. El riesgo de estas condiciones clínicas también está aumentado en caso de patología cardíaca previa, uso de corticosteroides, hipertensión, disfunción renal o hepática, infecciones, sobrecarga de líquidos y edema. Se recomienda evitar su uso en niños con síndrome congénito o intervalo QT prolongado. Por otro lado, puede aumentar el riesgo de infecciones oportunistas y posible desarrollo de trastornos linfoproliferativos asociados a infección por virus de Epstein-Barr, sobre todo en niños muy pequeños (<2 años), seronegativos para el VEB-VCA. En este grupo de pacientes debe evaluarse la serología para el VEB-VCA antes de iniciar el tratamiento y mantener una vigilancia cuidadosa durante el tratamiento. Por último, debido al riesgo de sufrir alteraciones malignas de la piel, se debe reducir la exposición a la luz solar y a los rayos UV durante el tratamiento. Por lo tanto, los pacientes de alto riesgo deben ser controlados y, en caso de alteraciones, debe evaluarse una reducción de dosis o cambio de agente inmunosupresor.

Paralelamente, dentro de los efectos secundarios asociados a Tacrolimus, se pueden mencionar los siguientes: trastornos cardíacos (alteraciones isquémicas, taquicardia), trastornos de la sangre y del sistema linfático (anemia, leucopenia, trombocitopenia, leucocitosis), trastornos del sistema nervioso (temblor, dolor de cabeza, convulsiones, alteraciones de la conciencia, parestesias y disestesias), trastornos oculares (visión borrosa, fotofobia), trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos (disnea, alteraciones del parénquima pulmonar, derrame pleural, faringitis), trastornos gastrointestinales (diarrea, náuseas, trastornos inflamatorios gastrointestinales, perforación y úlceras gastrointestinales), hemorragias gastrointestinales, trastornos renales y urinarios (insuficiencia renal, fallo renal, oliguria, necrosis tubular renal, nefropatía tóxica), trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (prurito, *rash*, alopecia, acné), trastornos musculoesqueléticos

y del tejido conjuntivo (artralgia, calambres musculares), trastornos del metabolismo y de la nutrición (hiperglucemia, diabetes *mellitus*, hiperpotasemia, hipomagnesemia, hipofosfatemia, hipopotasemia, hipocalcemia, hiponatremia, sobrecarga de líquidos, hiperuricemia, anorexia, acidosis metabólica, hiperlipemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia).

Por otro lado, es importante considerar las interacciones farmacológicas que pueden interferir en el uso de Tacrolimus, considerando que este es un sustrato del CYP3A4 y la glicoproteína -p, por lo tanto, es necesario monitorizar el uso concomitante de fármacos inhibidores fuertes del CYP3A4 (Telaprevir, Boceprevir) o inductores del CYP3A4 (Rifampicina). Respecto a la Ciclosporina, puede inhibir potencialmente el metabolismo de Tacrolimus mediado por CYP3A4 ya que la semivida de la misma se alarga cuando se administra simultáneamente con Tacrolimus y pueden producirse efectos nefrotóxicos aditivos/sinérgicos. Por ende, no se recomienda la asociación de Ciclosporina y Tacrolimus, y debe tenerse precaución cuando se administra a pacientes tratados previamente con Ciclosporina. Además, antifúngicos como Ketoconazol, Fluconazol, Itraconazol y Voriconazol, Eritromicina o inhibidores de la proteasa VIH pueden interferir.

También se debe considerar la existencia de posibles interacciones con otros medicamentos que presentan alta afinidad por las proteínas plasmáticas, con inhibidores potenciales del metabolismo de Tacrolimus como Bromocriptina, Cortisona, Dapsona, Ergotamina, Miconazol, entre otros y fármacos que disminuyen los niveles sanguíneos de Tacrolimus como Rifampicina, Fenitoína, Fenobarbital y dosis de mantenimiento de corticoesteroides. Finalmente, se recomienda evitar la toma elevada de potasio o diuréticos ahorradores de potasio; evitar fármacos nefrotóxicos o neurotóxicos pueden elevar el nivel de toxicidad y evitar el uso de vacunas vivas atenuadas ya que estas pueden ser menos eficaces durante el tratamiento con este fármaco (Asociación Española de Pediatría, 2021).

Resultados

La detección de Tacrolimus puede lograrse mediante diversas técnicas, las más comunes son LC-MS/MS o inmunoensayo. Dado que los médicos tienden a mantener a los pacientes en concentraciones valle bajas de Tac (3–7 ng/mL), los

laboratorios deben emplear metodologías que muestren límites de cuantificación bajos. Entre ellas se incluyen la **LC-MS/MS**, el **inmunoensayo enzimático multiplicado (EMIT)**, el radioinmunoensayo (**RIA**), el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (**ELISA**), el inmunoensayo magnético conjugado con anticuerpos (**ACMIA**), el inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (**ECLIA**), el inmunoensayo de donante de enzimas clonadas (**CEDIA**), los sistemas de microesferas cuantitativos turbidimétricos (**QMS**) y el inmunoensayo de polarización de fluorescencia (**FPIA**) (Kalt D. A., 2017).

En el **Sanatorio Británico**, la metodología utilizada para la cuantificación de Tacrolimus en sangre humana es el inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (**CMIA**), con el equipo ARCHITECT i1000RS. Se trata de un inmunoanálisis de acción retardada de un paso que utiliza la tecnología CMIA con protocolos de ensayos flexibles, denominados Chemiflex, el cual emplea micropartículas paramagnéticas recubiertas de anti-Tac y un trazador de Acridinio-Tacrolimus. El derivado de Acridinio usado, incorpora un grupo sulfopropilo que le da mayor solubilidad en agua, y un grupo sulfonamida que aumenta la estabilidad del compuesto en solución acuosa, para lograr obtener una reacción más eficiente, mayor producción de luz, mayor vida útil de los reactivos a bordo, y mayor calidad del ensayo. A continuación, se esquematiza la reacción CMIA:

Reacción CMIA:

Micro partícula magnética + Muestra + Conjugado de acridinio + Pre Trigger/trigger, ácido-base.
--

En esta reacción, la muestra, el diluyente y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo Anti-Tacrolimus se combinan para crear una mezcla de reacción, logrando que el Tac presente en la muestra se una a tales partículas. Después de una pausa, se añade el conjugado de Tacrolimus marcado con Acridinio a la mezcla, el cual compite por los sitios de unión disponibles en las micropartículas. Luego de otra incubación y del lavado, se añaden las soluciones pre-activadora y activadora a la mezcla. La reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades reactivas de luz (URL). Al tratarse de una técnica competitiva, la señal obtenida por el sistema óptico de ARCHITECT iSystem es inversamente

proporcional a la cantidad de tacrolimus presente en la muestra (Abbott Laboratories, 2022).

Es importante considerar que, antes de iniciar la secuencia automatizada con el sistema ARCHITECT, se realiza un paso de pretratamiento manual de la muestra, que utiliza Metanol/Sulfato de zinc para precipitar la proteína y extraer Tac de la muestra de sangre conservada con ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA) y luego se centrifuga. La determinación se realiza sobre el sobrenadante (Kalt D. A., 2017).

En cuanto al tipo de muestra, los estudios farmacocinéticos han demostrado que la más adecuada es sangre entera como medio para la descripción de las características farmacocinéticas del Tacrolimus, por sobre el plasma. Este fármaco está unido a proteínas, principalmente a la albúmina y a la glucoproteína ácida alfa 1, y presenta un alto grado de unión a los eritrocitos. Su distribución entre sangre y plasma depende de varios factores tales como el hematocrito, la temperatura de separación de plasma, la concentración del fármaco y la concentración de las proteínas plasmáticas.

El espécimen utilizado para la determinación es sangre recogida en tubo con EDTA. Respecto a la conservación, los especímenes podrán ser almacenados a una temperatura entre 2°C-8°C por un tiempo no mayor a 7 días, de lo contrario se deberán congelar a una temperatura igual o menor a -10°C. La recuperación del tacrolimus en especímenes de sangre congelados es mayor al 90% a los 6 meses pero a los 9 meses hay una pérdida del 46%.

A continuación, se describe detalladamente el procedimiento utilizado en el sanatorio Británico:

Procedimiento de pretratamiento manual:

El ensayo requiere un pretratamiento manual de todos los especímenes de sangre de pacientes, de los calibradores de ARCHITECT Tacrolimus y de los controles comercializados. Todas las muestras pretratadas (especímenes, calibradores o controles) se deben analizar una vez decantadas en un tubo de pretratamiento para técnicas de inmunosupresores en el transcurso de 30 minutos y se deben colocar en ARCHITECT iSystem. Las mismas se deben cargar con prioridad, para evitar los efectos de la evaporación en la determinación. Con los tubos de pretratamiento

utilizar las marcas de nivel para asegurar que la cantidad de espécimen del paciente sea suficiente para realizar el ensayo.

Los pasos del pretratamiento se señalan a continuación:

1. Mezclar cada muestra invirtiendo suavemente el tubo de extracción entre 5 y 10 veces.
2. Pipetear con precisión 200 ul de cada muestra en un tubo Eppendorf. Usar un tip para cada muestra.
3. Agregar 200 ul de reactivo precipitante y tapar. Se debe tener en cuenta que dicho reactivo es muy volátil, por ende, para evitar pérdidas por evaporación, se recomienda cerrar bien el frasco que lo contiene cuando no se lo utiliza.
4. Homogeneizar inmediatamente en Vortex durante 5 a 10 segundos, utilizando la máxima potencia del mismo.
Repetir el proceso “añadir, tapar y agitar” para cada muestra.
5. Centrifugar durante un mínimo de 4 minutos a una FCR (fuerza de centrifuga relativa) mayor a 9500 x g o a 38.500 g-minutos.
6. Retirar cada tubo de la centrífuga y comprobar la presencia de un sedimento bien formado y de un sobrenadante claro.
7. Destapar cada tubo y verter el sobrenadante en el tubo de pretratamiento para técnicas de inmunosupresores, cuando el equipo esté listo para cargar las muestras.
8. Homogeneizar Vortex de 5 a 10 segundos.
9. Trasladar dicho tubo al portagradillas de muestras ARCHITECT.

Una vez finalizado el análisis, desechar lo que quede de las muestras pretratadas. Tener en cuenta que **los análisis realizados con ARCHITECT Tacrolimus no se pueden repetir sin repetir el procedimiento de tratamiento manual.**

Procedimiento del ensayo:

- Antes de cargar el equipo de reactivos en el sistema por primera vez, se debe mezclar el frasco de micropartículas para resuspender las mismas. Invertir el frasco 30 veces hasta lograr resuspensión total, de lo contrario, no se podrá utilizar el producto.

- Colocar un septo en el frasco.
- Cargar el equipo de reactivos en ARCHITECT iSystem.
- Comprobar que tenga todos los reactivos necesarios, cada uno con el septo correspondiente.
- Realizar una calibración de ser necesario.
- Solicitar los ensayos en el sistema.
- No se pueden analizar más de 3 replicados del mismo tubo de pretratamiento para técnicas de inmunosupresores.
- Preparar los calibradores y controles (procedimiento de pretratamiento manual).
- Cargar las muestras pretratadas.
- Pulse la tecla procesar.

Se debe considerar que el ensayo ARCHITECT Tacrolimus ha sido diseñado para tener un límite de detección ≤ 1.5 ng/ml, que está por debajo del intervalo de valores comunicables del mismo. Este límite, definido como la concentración equivalente a 2 desviaciones estándar por encima del calibrador (0 ng/ml) ARCHITECT Tacrolimus, fue de 0,3 ng/ml con un nivel de confianza del 95%. Respecto a la **sensibilidad funcional** del ensayo, la misma se estableció como ≤ 2 ng/ml.

Considerando que el **intervalo analítico del ensayo ARCHITECT Tacrolimus** se sitúa entre **2 ng/ml** (valor mínimo definido por la sensibilidad funcional o límite de cuantificación) **a 30 ng/ml**, los especímenes con concentraciones superiores a 30,0 ng/ml generan un alerta y se deben diluir. La dilución recomendada es 1:2, añadiendo 150 ul del espécimen de paciente a 150 ul de calibrador A ARCHITECT Tacrolimus y a continuación realizar el procedimiento de pretratamiento manual. Tener en cuenta que se debe introducir en peticiones del paciente el factor de dilución utilizado, el cual será tomado en cuenta para calcular automáticamente la concentración de la muestra y comunicar el resultado (Abbott Laboratories, 2022)

Discusión y conclusiones

Considerando las técnicas mencionadas anteriormente, se puede concluir que el **inmunoensayo** se sigue utilizando en muchos laboratorios del país debido a su **facilidad de uso y los menores costos asociados con los servicios**. Esta opción

resulta atractiva porque **no requiere un alto nivel de habilidad técnica** por parte del personal. Además, incluye el **pretratamiento automatizado de las muestras**, lo cual permite reducir el número de interferencias; una mayor estabilidad de los reactivos para reducir el posible efecto matriz y los nuevos anticuerpos anti-Tac proporcionan mayor sensibilidad y afinidad al fármaco diana. Como desventaja, los inmunoanálisis son **inespecíficos** ya que los anticuerpos utilizados presentan reactividad cruzada con diversos metabolitos. Es decir, en caso de que falle la eliminación del Tacrolimus (por ejemplo durante una colestasis) puede que se acumulen los metabolitos del mismo lo que resulta en una sobreestimación de la concentración del fármaco.

Por su parte, la **LC-MS/MS** es la metodología preferida debido a su **alta especificidad**. Esta técnica permite una separación óptima de diferentes moléculas mediante la fragmentación molecular. Sin embargo, para realizar este tipo de prueba, se requiere un **alto grado de capacidad técnica** y una amplia capacitación del personal. Este método también implica altos costos iniciales y una validación completa para su uso.

Por otro lado, la principal desventaja observada en muchos sistemas no cromatográficos es la posible **reactividad cruzada entre el fármaco original y sus metabolitos**. Esta reactividad cruzada puede dar lugar a valores de concentración falsamente elevados (Kalt D. A., 2017).

Para comparar el ensayo de ARCHITECT Tacrolimus con el ensayo LC/MS/MS, se realizó un estudio utilizando muestras de sangre humana recogidas con EDTA obtenidas de pacientes con trasplante de hígado y de riñón y en tratamiento con Tacrolimus. Se realizó un análisis de regresión según el método de Passing-Bablok. En la tabla siguiente se resumen los datos obtenidos en este estudio:

ARCHITECT Tacrolimus respecto a LC/MS/MS			
Número de observaciones	Ordenada en el origen (IC del 95%)	Ordenada en el origen (IC del 95%)	Coefficiente de correlación
125	0,22 (0,02 a 0,48)	1,07 (1,01 a 1,12)	0,92

IC= intervalo de confianza

Intervalo de valores de los especímenes(ARCHITECT): 2,1 ng/ml a 14,8 ng/ml.

Intervalo de valores de los especímenes (LC/MS/MS): 1,78 ng/ml a 19,20 ng/ml.

Se debe considerar que tales datos son representativos, es decir, variables tales como las diferencias en el volumen y en la población de la muestra pueden afectar a la correlación del ensayo; y por ello los resultados obtenidos en otros laboratorios podrían ser distintos (Abbott Laboratories, 2022).

El coeficiente de correlación es una medida estadística que cuantifica la fuerza y dirección de la relación lineal entre dos variables. Indica qué tan bien o mal los puntos de datos de dos variables se ajustan a una línea recta. Los valores del coeficiente de correlación varían entre -1 y +1. En este caso, el coeficiente de correlación obtenido se encuentra entre 0 y 1, lo cual indica que existe una correlación positiva creciente (de débil a fuerte).

Perspectivas

Debido al metabolismo del Tac y sus posibles efectos adversos, se requiere una monitorización cuidadosa para obtener el efecto terapéutico deseado. Se debe tener en cuenta que no existe ningún intervalo terapéutico firmemente establecido para Tacrolimus en sangre. La complejidad del estado clínico, las diferencias individuales de sensibilidad frente a los efectos inmunosupresores y nefrotóxicos del fármaco, la administración simultánea de otros inmunosupresores, el tipo de trasplante, el tiempo transcurrido desde el trasplante y otros factores contribuyen a que difieran las concentraciones del fármaco en sangre consideradas como óptimas. Por lo tanto, los valores individuales de Tacrolimus no se deben utilizar como único indicador para modificar la pauta terapéutica, y cada paciente debe ser evaluado clínicamente antes de introducir cualquier cambio en esta. En definitiva, **cada usuario debe establecer sus propios intervalos, sustentados en la experiencia clínica.**

Además, los intervalos terapéuticos varían en función del análisis comercial utilizado, por lo que se deben establecer en cada caso particular. Los valores obtenidos con diferentes métodos de ensayo no se pueden utilizar indistintamente debido a las diferencias entre los mismos y a la reactividad cruzada con los metabolitos; ni se deben aplicar factores de corrección. Por ello **se recomienda utilizar un mismo ensayo para el seguimiento de los pacientes.**

A pesar de que el intervalo terapéutico de Tacrolimus no esté claramente definido, existen concentraciones valle esperadas en sangre a las 12 horas, comprendidas

entre 5 y 20 ng/ml en la fase inicial después del trasplante. Concentraciones más altas se correlacionan con un aumento en la incidencia de efectos adversos.

Bibliografía

- Wallemacq, P. E., & Reding, R. (1993). FK506 (tacrolimus), un nuevo inmunosupresor en el trasplante de órganos: aspectos clínicos, biomédicos y analíticos. *Clinical Chemistry*, 39(11 Pt 1), 2219–2228 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7693372/>).
- Jusko W. J. (1995). Análisis de tacrolimus (FK 506) en relación con la monitorización terapéutica de fármacos. *Monitoreo terapéutico de fármacos*, Volumen 17, Número 6 (<https://doi.org/10.1097/00007691-199512000-00009>).
- Kalt D. A. (2017). Tacrolimus: Una revisión de los métodos de detección en laboratorio e indicaciones de uso. *Laboratory medicine*, Volumen 48, Número 4 (<https://doi.org/10.1093/labmed/lmx056>).
- MedlinePlus en español. (s.f.). Tacrolimus [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina (EE.UU.). Recuperado de: <https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a601117.html>.
- Asociación Española de Pediatría. “TACROLIMUS”. Enero 2021. (<https://www.aeped.es/pediamecum/generatepdf/api?n=83434>).
- Abbott Laboratories. (2006). Inserto de ARCHITEC Tacrolimus. (Revisado en diciembre de 2022).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACEÚTICAS

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA
2025

El ADN como prueba de identidad:
la Biología Molecular aplicada al estudio de los
vínculos biológicos

AUTORES:

- MICAELA SOFÍA MARTINEZ
- LUCA ZANINI

TUTOR:

- SERGIO GHERSEVICH

INSTITUCIÓN DE ROTACIÓN:

- CIBIC LABORATORIOS

PRESENTACIÓN

En el presente trabajo se aborda de manera integral un servicio ofrecido por el sector de Biología Molecular de Cibic Laboratorios, orientado a la determinación de vínculos biológicos entre dos o más personas.

El objetivo de un estudio de vínculo biológico consiste en establecer la existencia de una relación de parentesco entre individuos, es decir, determinar si comparten un vínculo genético. Este tipo de análisis permite confirmar o descartar lazos familiares, entre ellos la paternidad, la maternidad y otras relaciones consanguíneas, tales como las de hermanos, tíos, abuelos u otros parientes.

Conocer las raíces genéticas de una persona no solo tiene implicancias a nivel familiar, sino también un profundo valor social y humano. En contextos como el de la identificación de personas desaparecidas o en causas judiciales relacionadas con violaciones de derechos humanos, los estudios de vínculo biológico permiten restituir identidades y reconstruir historias personales y familiares. De esta manera, la genética se convierte en una herramienta clave para enmendar a la sociedad, devolviendo la verdad a las familias.

MARCO TEÓRICO

En la realización de estudios de ADN está especialmente recomendado internacionalmente el uso de ciertos marcadores genéticos “Short Tandem Repeats” (STR) y, entre ellos, los 13 marcadores utilizados en el proyecto CODIS (Combined DNA Index System), para los que existen bases de datos referenciales en Argentina. Los STR son secuencias cortas de 2 a 7 nucleótidos repetidas en tándem (Figura 1), localizadas principalmente en regiones no codificantes del ADN (intrones). El número de repeticiones de cada STR varía entre individuos, dando lugar a distintos alelos. De esta manera, un mismo locus puede presentar distinto número de repeticiones en diferentes individuos, lo que convierte a los STR en marcadores autosómicos capaces de generar perfiles genéticos únicos y de gran utilidad para establecer vínculos biológicos.

Etapas preanalíticas

Consentimiento informado

El estudio de vínculo biológico comienza con un asesoramiento previo a las partes interesadas, en el cual se le presentan dos alternativas. Una de ellas posee validez desde el punto de vista legal, dado que se cuenta con la autorización expresa de los implicados en el análisis. De esta manera, los mismos asisten al laboratorio donde un profesional capacitado se encarga de tomar las muestras correspondientes. Por otro lado, existe una opción que se aplica cuando solo una de las partes autoriza el análisis. En estos casos, la muestra del otro individuo —por ejemplo, de un menor de edad con autorización de uno de los padres— es tomada por el propio solicitante (mediante hisopado bucal) y remitida al laboratorio para su procesamiento. Dado que no existe consentimiento firmado por todas las partes, este procedimiento carece de legitimidad jurídica y el informe emitido no contendrá los nombres de los individuos involucrados.

Obtención y recepción de muestras

Las muestras y condiciones válidas para llevar a cabo el estudio son:

- Hisopado bucal: debe realizarse en la mejilla (cara interna) con un movimiento de rotación para asegurar la extracción eficiente de células epiteliales. Luego, se deja secar a fin de evitar que la microbiota bucal degrade el material genético y se envía dentro de un tubo correctamente rotulado. La muestra debe conservarse al abrigo de la luz por un lapso máximo de 7 días a una temperatura de 2 a 8°C.
- Sangre entera con EDTA: 500 µL de muestra como mínimo. La muestra debe conservarse al abrigo de la luz por un lapso máximo de 7 días a una temperatura de 2 a 8°C.
- Sangre en papel: tomar la muestra, dejar secar y transportar dentro de un sobre de papel. La muestra debe conservarse al abrigo de la luz en un ambiente seco por un lapso máximo de 30 días a una temperatura de 25°C.
- Muestras forenses (huesos largos y piezas dentales).

Etapas analíticas

Para determinar el vínculo biológico se realizan pruebas de ADN comparando marcadores genéticos entre las personas evaluadas mediante:

- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex y análisis de fragmentos por electroforesis capilar para marcadores autosómicos (A-STR) y marcadores STR en cromosoma Y (Y-STR), siendo este último utilizado solo en caso de determinación de vínculo de manera indirecta cuando el posible padre no participa del estudio.
- PCR y separación en gel, para una posterior secuenciación para ADN mitocondrial.

Dado que se trabaja con material genético, sumamente inestable y susceptible a la degradación y contaminación, resulta imprescindible disponer de un laboratorio correctamente sectorizado. De esta manera, Cibic Laboratorios cuenta con 5 sectores en el laboratorio de Biología Molecular:

- Preparación de reactivos
- Pre-amplificación
- Amplificación
- Post-amplificación
- Validación

Extracción de ADN

Una vez obtenida la muestra, se procede a realizar la extracción de ADN. Para las muestras de hisopado bucal, sangre en papel o materiales de bajo número de células viables se lleva a cabo una extracción manual con el kit *High Pure PCR Template Preparation kit* (Roche Diagnostics). Para estos materiales biológicos la extracción automatizada no se recomienda, ya que no se logran obtener cantidades suficientes de material genético para realizar la PCR. El procedimiento comienza con la lisis celular mediante proteinasa K en presencia de clorhidrato de guanidina, lo que permite liberar los ácidos nucleicos. Estos se unen de forma selectiva a fibras de vidrio contenidas en un filtro de purificación especial. Luego, a través de lavados y centrifugaciones sucesivas, se eliminan contaminantes celulares e inhibidores de la

PCR. Finalmente, el ADN se libera de las fibras con una solución de baja concentración salina.

Este método presenta varias ventajas: evita el uso de disolventes orgánicos, permite procesar múltiples muestras en poco tiempo y asegura la obtención de ADN genómico de alta calidad y peso molecular, adecuado para amplificaciones precisas por PCR.

Para las muestras de sangre con EDTA, se realiza un protocolo de extracción de ADN utilizando el sistema automatizado *MagNA Pure 96* (Roche Diagnostics). Su funcionamiento se basa en la unión selectiva de los ácidos nucleicos a partículas magnéticas. Primero, la muestra (200µL) se mezcla con un buffer de lisis que rompe las células, liberando el material genético. Luego, las partículas magnéticas se añaden para capturar el ADN en presencia de sales caotrópicas, separándolo de proteínas, lípidos y otros contaminantes. A continuación, el sistema realiza varios lavados para eliminar impurezas y finalmente libera los ácidos nucleicos purificados en un buffer de elución. El proceso es totalmente automatizado, lo que minimiza errores y riesgos de contaminación, y permite procesar hasta 96 muestras por ciclo en aproximadamente 60 a 80 minutos.

Una vez finalizada la extracción, se procede a medir la concentración del ADN obtenido a través del nanofotómetro *NanoPhotometer Pearl* (Implen), y se lleva mediante diluciones apropiadas utilizando agua calidad Milli-Q a una concentración de entre 0,15 ng/µL (para ADN proveniente de sangre con EDTA) y 0,45 ng/µL (para ADN proveniente de hisopado bucal o sangre en papel).

PCR de punto final

A continuación, se efectuará una PCR de punto final en un termociclador con el fin de amplificar el material genético de interés. Para ello, se prepara, según el caso particular, la mezcla de PCR: para la amplificación de loci autosómicos (A-STR), utilizando el kit *GlobalFiler™ PCR Amplification kit* (Thermo Fisher Scientific); y para el caso de la amplificación de loci específicos del cromosoma Y (Y-STR), empleando el kit *AmpFLSTR™ Yfiler™ PCR Amplification kit* (Thermo Fisher Scientific). Ambos kits se utilizan en formato multiplex con cebadores marcados con fluorocromos, de

manera que cada locus amplificado pueda ser identificado por un color específico durante la detección por láser en el secuenciador. En estos kits se emplean fluorocromos como 6-FAM™ (azul), VIC® (verde), NED™ (amarillo), PET® (rojo) y LIZ® (marcador de tamaño interno), permitiendo distinguir simultáneamente loci que puedan tener fragmentos de tamaño similar. Cada reacción se lleva a cabo siguiendo estrictamente su protocolo de desnaturalización, ciclado, extensión final y enfriamiento.

Electroforesis capilar

Posteriormente, se preparan los productos de PCR para ser inyectados en el secuenciador *Applied Biosystems SeqStudio Genetic Analyzer for Human Identification* (Thermo Fisher Scientific). Si los amplicones obtenidos no son inyectados inmediatamente luego de terminado el ciclado, los tubos deben conservarse al abrigo de la luz por un lapso máximo de dos días a una temperatura de 2 a 8°C.

Durante el proceso, las moléculas de ADN son introducidas en los capilares por inyección electrocinética bajo un voltaje bajo. En este paso se especifica en el software la identidad y tipo de cada muestra (muestras, “ladder” o escalera alélica, control positivo, control negativo y marcador de tamaño interno). A continuación, se aplica un voltaje alto que genera una corriente eléctrica entre el electrodo del ánodo y el del cátodo, lo que impulsa la migración de las moléculas de ADN cargadas negativamente a través del polímero. Los fragmentos se separan de acuerdo con su tamaño, migrando más rápidamente los de menor longitud.

Cuando los fragmentos alcanzan la ventana de detección situada cerca del ánodo, los fluorocromos son excitados por un láser y la fluorescencia emitida es registrada por detectores específicos según la longitud de onda. Cada pico en el electroferograma refleja un fragmento amplificado: el color del pico identifica el locus correspondiente, mientras que la posición horizontal indica el tamaño del fragmento en pares de bases, permitiendo al software GeneMapper™ asignar los alelos correctos de cada locus STR. En cada corrida se analizan el “ladder” (una mezcla de fragmentos de ADN que sirve como patrón de referencia, ya que contiene todos los alelos conocidos y validados para cada locus), el marcador de tamaño interno, el

control positivo, el control negativo y las muestras, garantizando así la validez y confiabilidad del perfil genético obtenido.

Análisis estadístico

El estudio finaliza con el análisis de los datos obtenidos y el cálculo de probabilidad con el software *Familias*. Este es un software gratuito que sirve para el cálculo de probabilidades al inferir paternidad e identificación de individuos a partir de datos de ADN.

Etapas post-analítica

Para explicar esta etapa se muestra un caso ejemplo y sus resultados. De esta manera, se evaluó la probabilidad de vínculo biológico entre un posible padre e hijo, con la participación de la madre biológica. Para este estudio de ADN se utilizaron 21 sistemas genéticos A-STR. Además, dos STRs ubicados en el cromosoma Y y uno que indica el sexo cromosómico (Amelogenina).

RESULTADOS

Se obtuvieron los perfiles genotípicos de los participantes a partir de sangre con EDTA, los mismos se presentan en forma de tabla (Tabla 1) y, a modo de ejemplo, se expone el electroferograma para los sistemas D3S1358, vWA, D16S539, CSF1PO y TPOX (Figura 2).

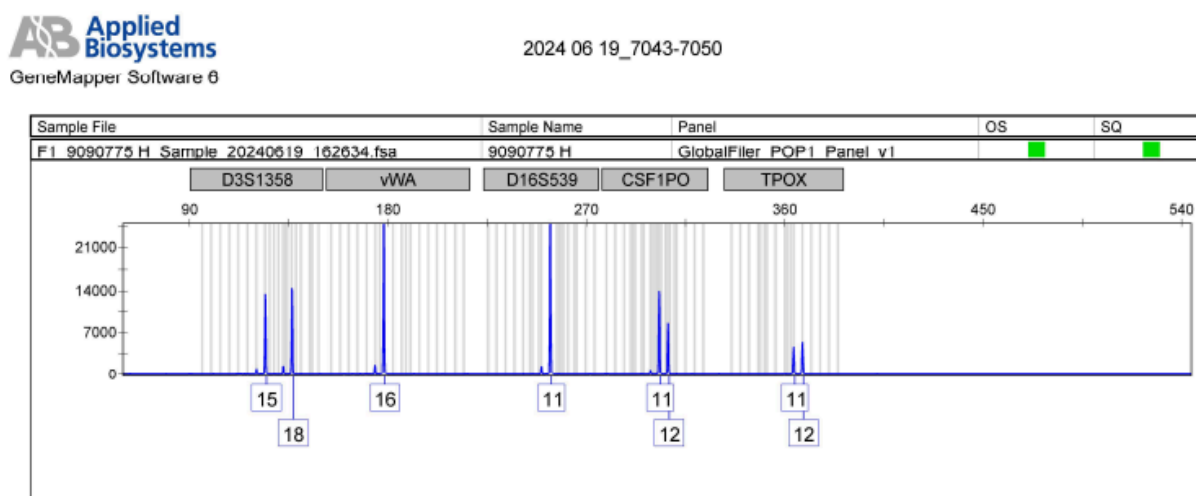


Figura 2 - Se observa el electroferograma generado por GeneMapper™ para los sistemas D3S1358, vWA, D16S539, CSF1PO y TPOX del posible hijo. Imagen brindada por Cibic Laboratorios.

SISTEMA	PP		H		MB		LR parciales
	Alelo 1	Alelo 2	Alelo 1	Alelo 2	Alelo 1	Alelo 2	
CSFIPO	11	12	11	12	11	12	1,5477
D10S1248	14	14	14	14	13	14	2,7658
D12S391	16	19	16	21	19,3	21	20,4082
D13S317	9	12	9	9	9	12	3,0659
D16S539	9	11	11	11	11	12	1,8524
D18S51	12	18	12	17	12	17	1,9862
D19S433	14	14	14	14	13,2	14	3,3297
D1S1656	13	16	16	17	16,3	17	2,7664
D21S11	29	30	30	31,2	29	31,2	1,9078
D22S1045	11	16	11	16	16	16	5,9559
D2S1338	18	23	20	23	18	20	4,0307
D2S441	11	11	11	11	11	12	3,3466
D3S1358	15	17	15	18	16	18	1,4188
D5S818	13	13	12	13	12	12	7,9937
D7S820	9	10	8	10	8	11	1,8646
D8S1179	13	14	10	13	10	15	1,6320
FGA	19	20	20	26	25	26	5,3115
SE33	19	27,2	21,2	27,2	18	21,2	7,1750
TH01	7	7	7	7	6	7	3,7160
TPOX	8	11	11	12	9	12	1,6643
vWA	16	16	16	16	14	16	3,2315
DYS391	10		10		-		-
Y indel	2		2		-		-
AMEL	X	Y	X	Y	X	X	-

Tabla 1 - Se observa el análisis del genotipo hallado para el posible padre (PP), madre biológica (MB) y posible hijo (PH) de acuerdo a cada sistema estudiado. Además, se presentan los “Likelihood Ratio” (LR) parciales en cada uno de ellos.

Para la realización de los cálculos se utilizaron bases de datos del Banco Nacional de Datos Genéticos de Argentina. En estos cálculos se establece el Índice de Paternidad Acumulado (IP) o “Likelihood Ratio” (LR), siendo el mismo el resultado del producto de los LR parciales. Así, el LR indica cuántas veces es más probable una relación de parentesco entre dos perfiles genéticos, que una relación de no parentesco entre ellos. Es decir, cuanto más elevado sea el LR, mayor es la evidencia que sustenta el vínculo entre el posible padre e hijo.

Además, se establece la Probabilidad de Paternidad (P) que debe interpretarse en el contexto del Índice de Paternidad y demás características que definen al estudio.

$$\text{LR} = 36566387745$$

$$\text{P} = 99,999999997265 \%$$

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Considerando los datos obtenidos en este estudio y a través de los resultados que se desprenden del cálculo no se puede descartar el vínculo Padre-Hijo entre los participantes de este estudio, observándose una Probabilidad de Paternidad superior al 99,99999999726 %.

Finalmente, el informe es entregado de manera presencial en la sucursal “Paseo del Siglo” por los bioquímicos del sector SAB (Atención Bioquímica a Pacientes), quienes quedan a disposición en el caso de necesitar asesoramiento.

PERSPECTIVAS

El campo de la biología molecular aplicada a la determinación de vínculos biológicos se encuentra en constante evolución. Actualmente, los marcadores STR constituyen el estándar internacional; sin embargo, la incorporación de tecnologías de secuenciación masiva y el análisis de regiones más amplias del genoma abren la posibilidad de superar las limitaciones de los métodos tradicionales y lograr perfiles genéticos de mayor resolución.

En este contexto, los estudios de vínculo biológico se consolidan como una herramienta confiable y de gran valor en ámbitos clínicos y judiciales. A futuro, los avances tecnológicos, junto con el desarrollo de bases de datos poblacionales y marcos regulatorios adecuados, permitirán incrementar su precisión y ampliar aún más sus aplicaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Bandelt, H. J., & Parson, W. (2008). Consistent treatment of length variants in the human mtDNA control region: A reappraisal. *International Journal of Legal Medicine*, 122(1), 11–21. <https://doi.org/10.1007/s00414-007-0192-3>
- Butler, J. M. (2007). Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Biotechniques*, 43(4), ii–v. <https://doi.org/10.2144/000112582>
- Herrera, R. J., & Garcia-Bertrand, R. (2018). *Ancestral DNA, human origins, and migrations*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-04489-8>
- López, J. A., & Rodríguez, M. J. (2016). Identificación de sospechosos a través de búsquedas familiares en bases de datos de perfiles de ADN. *Forensic Science International*, 266, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.04.011>
- Tully, G., Bär, W., Brinkmann, B., Carracedo, A., Gill, P., Morling, N., Parson, W., & Schneider, P. (2001). Considerations by the European DNA Profiling (EDNAP) group on the working practices, nomenclature and interpretation of mitochondrial DNA profiles. *Forensic Science International*, 124(1), 83–91. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00552-4](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00552-4)

Estrategias diagnósticas y análisis epidemiológico del Dengue en Rosario: Temporada 2024/2025

Autoras

- ❖ Antonietta, Maira Agustina
- ❖ Ibarra, Jazmín

Tutoras

- Martí, Belén
- Diviani, Romina

Institución de rotación

- Centro De Especialidades Médicas Ambulatorias Rosario (CEMAR)

PRESENTACIÓN

El dengue es la enfermedad viral, transmitida por artrópodos a humanos, más prevalente a nivel mundial. Actualmente, América es una de las regiones más afectadas por el crecimiento del número de casos de dengue.

En este trabajo se explican las características de la enfermedad, la metodología de trabajo para el diagnóstico según las diferentes fases epidemiológicas, y los resultados obtenidos en la región en la temporada 2024/2025 de la epidemia de dengue. En él se hace hincapié en cómo se realiza el diagnóstico de dengue por laboratorio en el Centro de especialidades médicas ambulatorias de Rosario (CEMAR).

MARCO TEÓRICO

El dengue es la enfermedad causada por el virus dengue, también denominado DENV, que es transmitido por el mosquito *Aedes aegypti*. Es necesario que el mosquito se alimente de una persona infectada para ser infectivo.

El DENV es un virus envuelto perteneciente a la familia Flaviviridae que posee un genoma ARN simple hebra. El mismo codifica para una poliproteína que es clivada enzimáticamente para dar lugar a todas las proteínas del virus, que se pueden clasificar en dos grupos: las estructurales y las no estructurales (NS). Las proteínas estructurales son la proteína C de la cápside, M de membrana, y E de envoltura. Estas tres proteínas forman las partículas virales. Dentro de las no estructurales se hallan proteínas con diferentes funciones, implicadas en el proceso de replicación del material genético del virus, su traducción y en la inhibición de la respuesta inmune. Algunas de ellas son NS3, NS5, NS2B, NS3, NS4B, NS1, entre otras. Esta última es la utilizada para la detección de antigenemia.

La patología ocasionada por el DENV puede presentarse tanto como un cuadro febril agudo autolimitado hasta una enfermedad hemorrágica grave. Incluso, es asintomática en un 30% de los casos.

Actualmente la OMS establece tres categorías de presentación clínica de dengue:

- Dengue sin signos de alarma, también conocido como “fiebre del dengue”. Se presenta con síntomas inespecíficos como fiebre, cefalea, dolor muscular y articular, malestar general, y otros más típicos como exantema, dolor retroocular, etc.
- Dengue con signos de alarma: este cuadro es de mayor gravedad que el anterior, en el que el paciente puede presentar dolor abdominal intenso y continuo, vómito persistente, acumulación de líquidos, sangrado de mucosas, alteración del estado de conciencia, hepatomegalia y aumento progresivo del hematocrito.
- Dengue grave: se define por la presencia de una o más de las siguientes manifestaciones clínicas: shock por extravasación del plasma o acumulación de líquido con dificultad respiratoria; sangrado profuso clínicamente importante; o compromiso grave de hígado, SNC, corazón u otros órganos. La forma caracterizada por hemorragias y trombocitopenia se conoce como

Fiebre Hemorrágica del Dengue, mientras que el cuadro de shock hipovolémico debido a la extravasación de líquidos se denomina Síndrome de Shock por Dengue.

Otra característica importante de mencionar, es que existen cuatro serotipos de DENV. En consecuencia pueden ocurrir epidemias causadas por múltiples serotipos o uno en particular. La complicación que acarrea este hecho, es que el paciente que cursa su primoinfección de dengue desarrolla inmunidad a largo plazo para ese serotipo en específico. Sin embargo, se observó que cuando se infectan con otro serotipo, aumenta el riesgo de sufrir una forma grave de dengue.

En el marco de la salud pública de la ciudad de Rosario y ciudades aledañas, se realiza el diagnóstico de la enfermedad del dengue según lo que dictamina el Ministerio de Salud de la provincia de Santa Fe a través de la dirección de epidemiología. La provincia forma parte de la Red Nacional de Diagnóstico de Arbovirus en Argentina, también conocida como RELDA (Red de Laboratorios de Diagnóstico de Arbovirus), y se basa en sus instrucciones de trabajos para la toma de decisiones.

La dirección de epidemiología establece y distribuye las pautas a tener en cuenta para el manejo de cada caso sospechoso de dengue para cada momento epidemiológico. Es necesaria esta distinción ya que es una enfermedad que no se presenta durante todo el año, sino principalmente durante los meses de verano y semanas posteriores. Esto tiene que ver con el ciclo biológico del vector *Aedes aegypti*, que está en circulación durante los meses cálidos y húmedos.

Se distinguen tres fases epidemiológicas durante el año, estas son las siguientes: fase de preparación, fase de respuesta a la epidemia y fase de recuperación.

La primera de ellas es la **Fase de preparación**, que contempla los meses de invierno. Durante esta época del año, no habría circulación del virus en la población, y los casos detectados serían personas provenientes de una zona endémica. El objetivo principal de esta fase es restringir la transmisión del virus a partir de estos primeros casos.

Para este propósito se debe denunciar siempre todo caso sospechoso de dengue a través de la ficha epidemiológica para casos febriles, la cual incluye, además de los datos personales, datos pertinentes como contacto con una persona enferma, viajes, síntomas característicos, antecedentes de infección por dengue, vacunación, entre otros. Tales casos son registrados obligatoriamente en el Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA).

Los pacientes que deben ser considerados casos sospechosos son las personas que residen en Rosario y ciudades de la región registradas como endémicas, y presentan fiebre de aparición aguda, sin síntomas de vías aéreas superiores y dos o más de los siguientes síntomas: náuseas, vómitos, exantema, mialgias, artralgias, cefalea, dolor retroocular, petequias, leucopenia, plaquetopenia, anorexia, malestar general, diarrea.

Para lograr controlar la propagación del virus se aumenta la vigilancia durante esta etapa. A tal efecto, se sigue un algoritmo de diagnóstico con las técnicas de

laboratorio necesarias para detectar todos los casos positivos. El mismo clasifica a los pacientes según la cantidad de días de evolución de síntomas:

- De 1 a 3 días del inicio de síntomas, se realizan solo técnicas directas. Las mismas son la detección del antígeno NS1 y PCR para la determinación de genoma viral.
- De los días 4 a 6 días de la enfermedad, se agrega un método indirecto, la medición de anticuerpos de tipo IgM a las ya mencionadas.
- Después de transcurridos 7 días, se realiza solo la detección de anticuerpos tanto IgM como IgG en suero, ya que no se encuentra el virus en circulación.

Ante un caso positivo de dengue se debe proseguir a realizar un bloqueo de foco por parte del personal de la secretaría de epidemiología. Éste consiste en buscar todos los casos febriles en un área de 200 metros a la redonda respecto a la vivienda y realizar los análisis correspondientes para dengue.

Luego de esta etapa, se continúa la **Fase de respuesta a la epidemia** que transcurre durante los meses de verano, que es cuando hay una mayor circulación del vector *Aedes aegypti*. En este periodo se presenta un gran aumento de casos de dengue que amerita un cambio en la forma de diagnóstico de la enfermedad. Los casos sospechosos, definidos por las características antes mencionadas, son confirmados por clínica y nexos. Sin embargo, cada caso debe estar acompañado siempre de su ficha epidemiológica. Tales casos son registrados en SISA como clasificación clínico - epidemiológica por nexos.

Durante esta etapa, la detección de laboratorio se reserva para determinados pacientes, los cuales son:

- Pacientes con signos de alarma, que son dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, acumulación de líquidos, sangrado de mucosas, letargo, hipotensión postural, hepatomegalia, aumento del hematocrito.
- Embarazadas
- Pacientes en los extremos de la vida, es decir, menores de 5 años, mayores de 70 años
- Pacientes con comorbilidades tales como obesidad, cardiopatías, diabetes, inmunosupresión, anticoagulados.
- Pacientes con criterios de gravedad e internados
- Pacientes fallecidos
- Pacientes con antecedentes de viaje fuera de Rosario 15 días previos

Este sistema de detección permite optimizar los recursos, de forma que estén disponibles los reactivos necesarios para los casos que realmente requieran un diagnóstico por laboratorio.

Por último, una vez finalizada la etapa de brote de la enfermedad que ocurre en la fase de respuesta a la epidemia, se pasa a la **Fase de recuperación**. Dicha instancia, inicia aproximadamente en el mes de mayo y se extiende hasta el inicio de la siguiente fase de preparación. Durante la recuperación, se cambia a la modalidad de vigilancia. Dado que en este momento disminuye la circulación del virus,

cualquier caso sospechoso, definido por los criterios mencionados, requiere el diagnóstico de laboratorio siguiendo el algoritmo de la fase de preparación y su denuncia correspondiente en SISA.

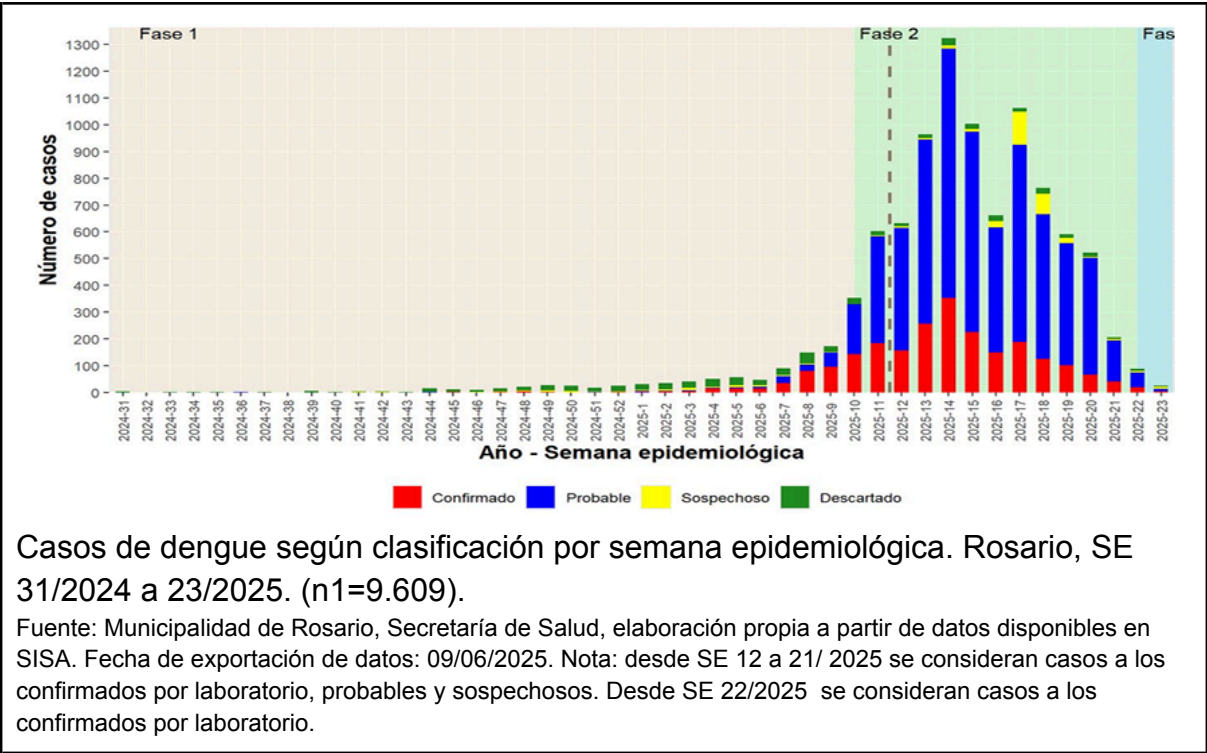
RESULTADOS

Las fases epidemiológicas de la Temporada 2024/2025 en la ciudad de Rosario se establecieron de la siguiente manera:

- Inicio del brote: los dos primeros casos autóctonos se registraron en la semana 47 de 2024. Hasta la semana 2 del 2025, los casos de dengue correspondieron exclusivamente al serotipo DEN-1, luego se identificaron casos de DEN-2 (predominante). En la semana 11, se confirmó un caso DEN-3 importado (Tailandia).
- Fase de preparación: comprende desde la semana 31 de 2024 hasta semana 7 del 2025. El inicio lo marca el cierre de la temporada 2023/2024, que corresponde al último caso confirmado en la semana 31 del 2024.
- Fase de respuesta a la epidemia: a partir de la semana 8 del 2025, el Ministerio de Salud de la provincia de Santa Fe declaró el cambio de fase para la ciudad de Rosario.
- Fase de recuperación: ante el descenso sostenido de casos se resolvió el pase a la fase de recuperación en la semana 23 del 2025.

En la Tabla 1 podemos visualizar los casos de dengue confirmados, probables y sospechosos por semana epidemiológica. Asimismo, las divide según las fases epidemiológicas.

Tabla 1:



En la Tabla 2 se observa el número de casos acumulados de dengue en la temporada 2024/2025 en Rosario. A su vez, distingue los casos confirmados autóctonos de importados, y los que son probables por nexos y por laboratorio.

Tabla 2:

Notificaciones	Total casos	Confirmado autóctono	Confirmado importado	Probable por nexos	Probable por laboratorio	Sospechoso	Descartado
9.677	8.194	2.215	81	4.624	1.766	378	613

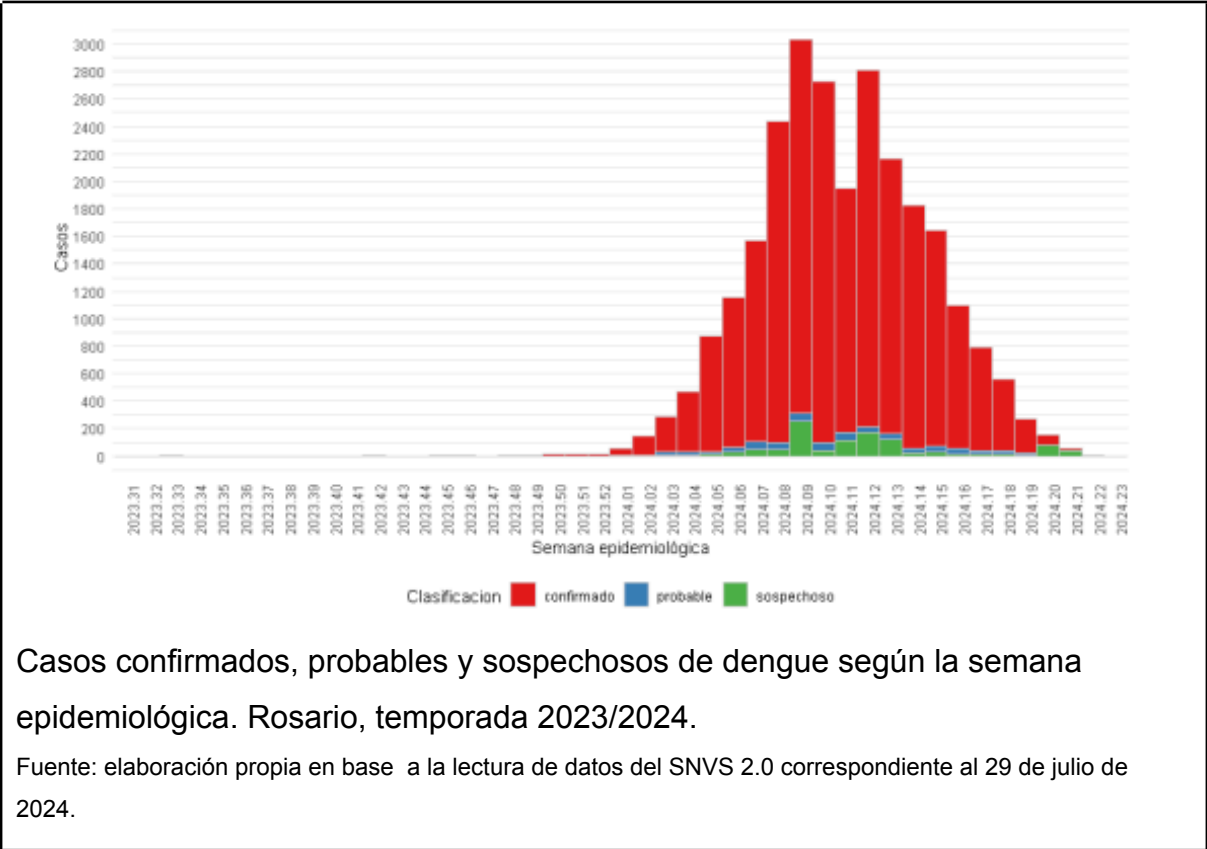
Número de casos acumulados de dengue en la temporada 2024/2025 en Rosario.

Fuente: Municipalidad de Rosario, Secretaría de Salud, elaboración propia a partir de datos disponibles en SNVS-SISA. Fecha de exportación de datos: 09/06/2025. Nota: desde SE 12 a 21/ 2025 se consideran casos a los confirmados por laboratorio, probables y sospechosos. Desde SE 22/2025 se consideran casos a los confirmados por laboratorio.

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES

En la Tabla 3 se pueden observar los casos confirmados, probables y sospechosos de dengue según la semana epidemiológica de la temporada 2023/2024 en Rosario.

Tabla 3:



El primer caso autóctono de la temporada anterior fue en la semana 47 del 2023 y el cierre de la temporada, marcado por el último caso confirmado, en la semana 31 del 2024.

Además, en la ciudad de Rosario, se registraron 24.480 casos confirmados de dengue desde la semana 31 del 2023 hasta la semana 30 del 2024.

Con respecto a los serotipos circulantes en la temporada anterior, el predominante en Rosario fue DEN-2, seguido de DEN-1, y solo 2 casos registrados de DEN-3.

Si realizamos una comparación en base a los datos obtenidos de la reciente temporada 2024/2025 con respecto a la temporada 2023/2024 podemos mencionar que el número de casos confirmados en la temporada anterior fue mucho mayor.

Con respecto a los serotipos circulantes, se coincide que en ambas temporadas los serotipos de dengue fueron DEN-2 (predominante), seguido de DEN-1 y un pequeño número de DEN-3.

En base a estos datos y comparaciones, podemos concluir que en la temporada anterior se vio un brote inesperado de casos de dengue, sumado a las grandes temperaturas que favorecieron el desarrollo del vector. Esto generó que las medidas de precaución y contención del dengue se iniciaran tardíamente, dando lugar a un gran número de casos y generando así una saturación del sistema de salud público. Es por ello que en la temporada 2023/2024 no hubo una división de fases epidemiológicas.

Con la experiencia vivida en la temporada anterior, en esta última temporada (2024/2025) se tomaron las medidas de prevención con una mayor anticipación. Esto permitió una mejor organización y prevención de la situación epidemiológica, con la división de las fases mencionadas anteriormente, para una mayor contención del brote. Este sistema de organización permite optimizar los recursos y mejorar la atención al brote de dengue.

Otro acontecimiento favorable fue la implementación de la vacuna contra el dengue, la cual empezó a administrarse en agosto del 2024. En un primer momento fue dirigida a adolescentes de 15 a 19 años debido a que se comprobó que era el grupo etario más propenso al incumplimiento de las medidas preventivas recomendadas. Luego comenzó a ampliarse el abanico a personal de salud, fuerzas de seguridad, pacientes con comorbilidades, etc. Consideramos que seguir expandiendo la aplicación de la vacuna y su divulgación ayudará notablemente a la contención de futuros brotes. Todos estos factores contribuyeron a que el brote de la última temporada sea controlado más rápidamente, dando lugar a un mejor manejo y menor número de personas afectadas. Se observó que la toma de medidas de

precaución de forma temprana ayudó notablemente a que la contención de los brotes sea más rápida, organizada y efectiva.

PERSPECTIVAS

Dado las mejoras observadas en la situación epidemiológica a raíz de la vacunación a determinados grupos sociales, creemos que sería beneficioso la extensión al resto de la población. Si bien no se espera que la vacuna disminuya el número de casos totales, sí se espera que disminuya el número de pacientes con formas graves del dengue.

A su vez, no nos parece menor seguir concientizando a la población sobre las formas de prevenir la proliferación del vector *Aedes aegypti* a través de políticas públicas. Entre ellas el “descacharrado”, uso de repelente, productos diseñados para ahuyentar mosquitos, etc.

BIBLIOGRAFÍA

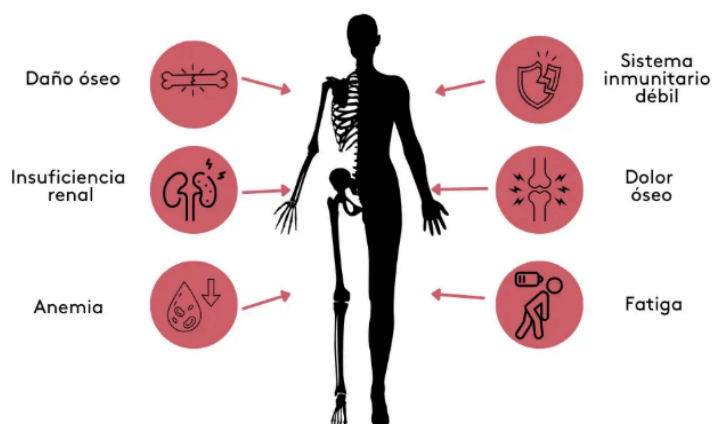
- Ross, T. M. (2010). Dengue Virus. *Clinics in Laboratory Medicine* (pp. 149-160) <https://doi.org/10.1016/j.cll.2009.10.007>
- Dengue (s.f.). Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/temas/dengue>
- Ministerio de Salud de la provincia de Santa Fe. Situación epidemiológica de problemas de salud priorizados Rosario, semana 23 / 2025. (2025). Datos Rosario. <https://datos.rosario.gob.ar/sites/default/files/2025-06/Situaci%C3%B3n%20epidemiol%C3%B3gica%20semana%2023%202025.pdf>
- Ministerio de Salud de la provincia de Santa Fe. Situación epidemiológica de problemas de salud priorizados Rosario, semana 31/ 2024 (2024). Datos Rosario. <https://datos.rosario.gob.ar/sites/default/files/2024-08/Situaci%C3%B3n%20epidemiol%C3%B3gica%20semana%2031%202024.pdf>
- Ministerio de Salud de la provincia de Santa Fe. Recomendaciones sobre manejo de dengue para los equipos de salud. Area de Epidemiología - Secretaria de Salud pública. 5 de marzo de 2025.
- Ministerio de Salud de la provincia de Santa Fe. Recomendaciones sobre manejo de dengue para los equipos de salud. Area de Epidemiología - Secretaria de Salud pública. 26 de mayo de 2025.

TRABAJO FINAL

Práctica Profesional Obligatoria (PPO)

MIELOMA MÚLTIPLE

El rol del Laboratorio en su diagnóstico,
seguimiento y tratamiento



Alumnas: Holman Camila, García Macarena

Tutor: Poccioni Jesica, Rossi Juan Ángel

Institución: Laboratorio del Hospital Escuela Eva Perón, Granadero Baigorria, Santa Fe.

2025

✓ MARCO TEÓRICO

El mieloma múltiple (MM) es una enfermedad maligna que forma parte del grupo de discrasias de células plasmáticas. Representa el 10 al 13% de las neoplasias hematológicas y la edad media de inicio es de aproximadamente 65 años. Se caracteriza por la proliferación neoplásica de estas células en la médula ósea, produciendo inmunoglobulinas monoclonales (proteína M) o fragmentos de estas, y disfunción orgánica. A esta proteína o componente monoclonal se le puede encontrar en sangre y/u orina.

Se puede clasificar al MM de acuerdo a la frecuencia según el tipo de inmunoglobulina presente:

TIPOS	Frecuencia (%)	TIPOS	Frecuencia (%)
IgG	50-55	Biclonal	0,5-3
IgA	20-25	IgM	0,5
Cadenas livianas	11-20	No secretor	<1
IgD	1-2	IgE	Muy raro

TABLA 1: clasificación según Ig

Se observa que a predominio de IgG es el tipo más frecuente.

¿DE QUÉ SE TRATA LA ENFERMEDAD?

El mieloma múltiple es un tipo de cáncer que afecta a las células plasmáticas, una clase de leucocito derivado de los linfocitos B, cuya función es la producción de anticuerpos en el contexto de inmunidad humoral adaptativa. En el MM, estas células plasmáticas se tornan neoplásicas a partir de eventos genéticos y epigenéticos, lo que conduce a su proliferación descontrolada en la médula ósea. Esto interfiere con la producción normal de las células sanguíneas y da lugar a la síntesis aberrante de la proteína monoclonal M.

Esta enfermedad se manifiesta con síntomas relacionados a la infiltración de la médula ósea por las células plasmáticas o por la inmunoglobulina anormal, lo cual ocasiona disfunción orgánica. Los signos y síntomas incluyen:

- Destrucción ósea: las células del mieloma secretan citoquinas que producen la activación generalizada de osteoclastos y la inhibición de osteoblastos, promoviendo así la resorción ósea. Ocasiona dolor óseo incapacitante, lesiones líticas, fracturas patológicas, hipercalcemia.

- Anemia: por el desplazamiento de la progenie eritroide. Puede presentar fatiga, palidez, debilidad.
- Insuficiencia renal: principalmente debido al efecto tóxico de las cadenas livianas libres monoclonales, que precipitan como cilindros a nivel del túbulo distal. La hipercalcemia contribuye a este cuadro.
- Infecciones: por la disminución de inmunoglobulinas policlonales normales y de neutrófilos.
- Otros: hiperviscosidad sanguínea, neuropatía, amiloidosis por el depósito de la proteína monoclonal en los distintos tejidos.

De esta forma, la impronta del MM se puede describir con el acrónimo **CRAB**:

✓**C**: HIPERCALCEMIA. El calcio sérico debe ser mayor de 2 mg/dl por encima del valor de referencia.

✓**R**: INSUFICIENCIA RENAL. Creatinina > 20 mg/l

✓**A**: ANEMIA. Hb: 2 g/dl, menor del límite inferior de referencia o menor de 10 g/dl. Normocítica-normocrómica

✓**B**: LESIONES ÓSEAS (BONE). Lesiones líticas u osteoporosis con fracturas por compresión (RMN o TAC)

Cabe resaltar la importancia del microambiente medular, ya que proporciona factores que interaccionan con receptores presentes en las células plasmáticas neoplásicas. Todo lleva a que se promueva su supervivencia, proliferación y resistencia al tratamiento.

¿CÓMO SE LLEGA AL DIAGNÓSTICO?

Se basa en los siguientes criterios:

- Células plasmáticas clonales > 10% en la médula ósea o biopsia de plasmocitoma.
- Proteína monoclonal en suero (IgG > 3 g/dl, IgA > 2 g/dl) u orina (κ o λ > 1 g/24 hs).
- Disfunción orgánica (CRAB).

¿QUÉ ROL CUMPLE EL LABORATORIO BIOQUÍMICO?

Además de las determinaciones mencionadas dentro del acrónimo CRAB (dosaje de hemoglobina, calcemia, creatininemia), se puede enumerar:

1. Alteraciones hematológicas

- Observación de hematíes en rouleaux en frotis de sangre periférica.

- Moderada disminución de GB.
- Moderada disminución de plaquetas.
- Velocidad de eritrosedimentación: muy elevada (debido a la gran cantidad de inmunoglobulinas que hay en el suero).
- Fórmula leucocitaria relativa: puede haber linfocitosis.

2. Detección de la Proteína M

- a. Proteinograma por electroforesis (PxE): se trata de un análisis que permite separar las proteínas en función de su carga eléctrica mediante electroforesis. Las muestras de elección pueden ser suero (proteinograma sérico) u orina (proteinograma urinario). En este caso, permite poner en evidencia *la presencia de la banda monoclonal*. En cuanto a su procedimiento, se siembra una muestra de suero u orina en un gel de agarosa y se aplica un campo eléctrico que hará que las proteínas migren a diferentes velocidades. Se procede con una tinción para visualizarlas como bandas con una determinada movilidad electroforética. Con respecto al MM, la presencia de una banda estrecha y homogénea en la región de las gammaglobulinas sugiere la presencia de una proteína monoclonal (proteína M). Además, se acompaña de bandas correspondientes a albúmina y al resto de las inmunoglobulinas disminuidas.

De acuerdo al área bajo la curva es posible la cuantificación de la banda monoclonal para determinar la concentración de la proteína M en el suero u orina, lo cual es fundamental para el seguimiento de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Cabe destacar que el 70% de los casos se caracterizan por presentar hiperproteinemia: PT de 9 a 10 g/dL hasta 15 g/dL.

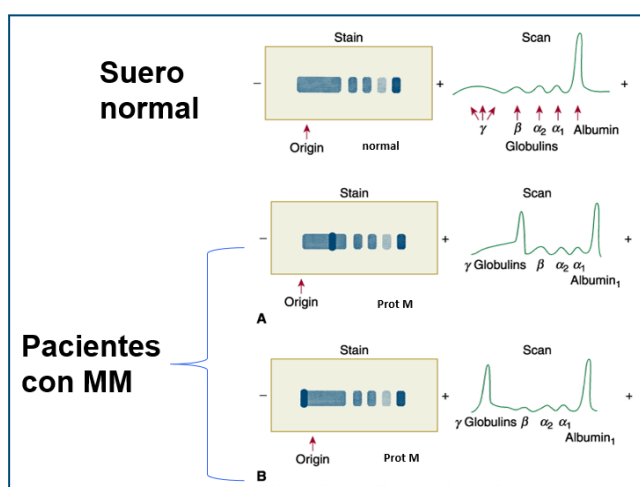


GRÁFICO 1

Se ilustran en el gráfico tres proteinogramas. En el gráfico para el suero normal se observa la banda correspondiente a la albúmina y la zona de las gammaglobulinas policlonales. Mientras que los pacientes con MM, además de la albúmina, presentan una banda en las gammaglobulinas que corresponde a la proteína monoclonal.

- b. Inmunofijación en suero y en orina: permite discriminar el tipo de cadena liviana y pesada que tiene la proteína M. La técnica consiste en sembrar la muestra en un gel de agarosa y luego, mediante electroforesis, se separan todas las proteínas del suero. Posteriormente se incuba cada una de las siembras con un antisuero específico para identificar la cadena pesada o liviana de la Ig (se incuba con anti- γ , anti- α , anti- μ , anti- κ , anti- λ). Se produce la

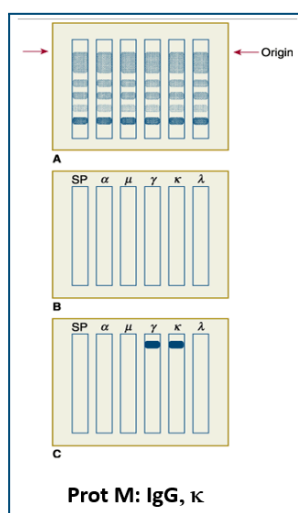


GRÁFICO 2

precipitación correspondiente y se realizan lavados. El inmunoprecipitado queda en el gel, que luego se tiñe. A su vez, también pueden determinarse las concentraciones de cadenas ligeras libres que haya en la muestra.

Ratio κ/λ : Un ratio anormalmente elevado o disminuido sugiere la presencia de una proliferación clonal de células plasmáticas que producen un predominio de cadenas ligeras monoclonales.

Siguiendo con el mismo ejemplo de los tres pacientes, se observa que la proteína monoclonal se trata de una IgG, con cadena ligera κ .

- c. Cuantificación de inmunoglobulinas séricas (immunonefelometría, inmunoturbidimetría): ayuda a cuantificar el exceso de un isotipo de inmunoglobulina (y la disminución de otros, como parte de la supresión inmunológica).
- d. Detección de proteína de Bence Jones (cadenas livianas que filtran libremente y aparecen en orina): a través de uroproteinograma por electroforesis, inmunofijación o prueba de calor. En esta última se observa la precipitación de la proteína de B-J al calentar la orina a 50-60°C y su posterior redisolución al aumentar la temperatura a 90-100°C. Sin embargo, la prueba de elección para esta detección es la electroforesis.

3. Medulograma

Se trata de un estudio citológico que consiste en el análisis microscópico de una muestra de médula ósea, obtenida generalmente por aspiración. Se utiliza para evaluar la composición celular de la médula ósea, tanto en cantidad como en calidad, y es clave para el diagnóstico de mieloma múltiple. En esta patología se observa *plasmocitosis* con morfología muy variada, conformando las llamadas “células del mieloma”. Pueden ser indistinguibles de las células plasmáticas normales o presentar rasgos atípicos: tamaño gigante, hiperbasófilas, con

nucleolos prominentes, células binucleadas y multinucleadas, con cuerpos de inclusión (cuerpos de Russell), vacuolas. En ocasiones, se identifican agrupaciones o “clusters” de estas células. El *infiltrado de células plasmáticas* puede oscilar desde un 10% hasta un reemplazo virtualmente completo de la médula.

4. Beta-2 Microglobulina

La beta-2 microglobulina (β 2-M) es una proteína presente en la superficie de casi todas las células nucleadas del cuerpo, incluyendo las células plasmáticas (forma parte de los antígenos de histocompatibilidad clase I). Se libera al torrente sanguíneo cuando las células se destruyen o se renuevan. Se utiliza como parte del Sistema de Estadificación Internacional (ISS) para evaluar el riesgo y predecir la supervivencia. Por otro lado, los niveles de albúmina en suero también representan un factor pronóstico importante y se utilizan en el sistema de estadificación ISS. En el contexto de esta enfermedad, la combinación de la determinación de β 2-M y albúmina resulta crucial para:

- Estadificación: El sistema de estadificación internacional (ISS) permite clasificar a los pacientes en diferentes estadios de riesgo (I, II, III), lo que ayuda a predecir la supervivencia y guiar las decisiones de tratamiento.
- Pronóstico: Niveles altos de β 2-M y bajos de albúmina se asocian con un peor pronóstico, indicando una enfermedad más agresiva y una menor respuesta al tratamiento.
- Monitorización: El seguimiento regular de estos marcadores permite evaluar la respuesta al tratamiento y detectar la progresión de la enfermedad.

Estadíos	Valores de los marcadores
ESTADÍO I	β 2-M < 3,5 mg/dl Albúmina > 3,5 g/dl
ESTADÍO II	β 2-M entre 3,5 y 5,5 mg/dl Albúmina < 3,5 g/dl
ESTADÍO III	β 2-M > 5,5 mg/dl

TABLA 2: clasificación según IPI

5. Otras evaluaciones: determinación del inmunofenotipo de las células plasmáticas por citometría de flujo y evaluación de las alteraciones citogenéticas asociadas.

¿CÓMO SE INFIERE EL PRONÓSTICO DEL PACIENTE?

Varía sustancialmente en función de:

1. La edad del paciente.
2. El estadio en la detección de la enfermedad.
3. El estado general del paciente.
4. La presencia de determinadas alteraciones citogenéticas (siendo hiperdiploide mejor que hipodiploide).
5. Si presentan insuficiencia renal grave y si responden al tratamiento.

¿CÓMO PUEDE SER EL TRATAMIENTO?

Los pacientes deben ser tratados con 4 a 6 ciclos de quimioterapia utilizando tres drogas que incluyan un inhibidor de proteosoma y un inmunomodulador, a fin de alcanzar la máxima reducción de la masa tumoral (Bortezomib, Lenalidomida y Dexametasona), constituyendo el protocolo RVd. Existen distintos protocolos de tratamiento, pero por lo general aplican combinaciones de drogas.

Se recomienda el trasplante autólogo en menores de 65 años. Este procedimiento consiste en la obtención de células madres de sangre periférica para un futuro autotrasplante. Por otro lado, si la persona no es elegible para el trasplante, el objetivo principal será entonces mejorar la calidad de vida del paciente con una quimioterapia adecuada.

¿CÓMO SE REALIZA EL SEGUIMIENTO Y LA EVALUACIÓN DEL PACIENTE?

- Hemograma completo luego de cada ciclo de tratamiento.
- Evaluación de la proteína M cada 2 ciclos de tratamiento: proteinograma, inmunofijación con cuantificación del componente M (se evalúa el % de ascenso o descenso de la Ig).
- Dosaje de la beta-2 microglobulina.

✓ PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

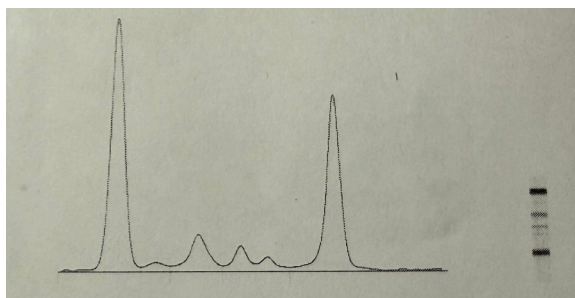
MOTIVO DE CONSULTA: Paciente de 68 años es derivada a la institución para la realización de un control y un laboratorio de rutina.

ANTECEDENTES: Sin antecedentes patológicos de jerarquía. Solo refiere cansancio generalizado y dolor óseo inespecífico.

ESTUDIOS REALIZADOS PARA LLEGAR AL DIAGNÓSTICO

A los análisis de rutina solicitados se decidió agregarles la determinación de proteínas totales, obteniendo un resultado elevado. Esto motivó el inicio de una evaluación diagnóstica más detallada:

- **TAC de tórax, abdomen y pelvis** (26/12/2022): TÓRAX: sin lesiones a destacar. ABDOMEN Y PELVIS: múltiples formaciones de contornos definidos y contenido hipodenso homogéneo que no refuerza luego de la administración de contraste. La de mayor tamaño se ubica a nivel del lóbulo hepático derecho y mide 23,5 mm. Compatibles en primer momento con formaciones quísticas simples.
- **Laboratorio** (27/12/2022): GR: 3,22 mill/mL; HTO: 31,3%; HB: 10,6 g/dL; VCM: 97,2 fL; GB: 5100/mL (PMN: 44%; Linfocitos: 48%); Plaquetas: 350000/mL; VES: 15 mm; Uremia: 29 mg/dL; Creatininemia: 0,88 mg/dL; Calcio: 9,9 mg/dL; FAL: 63 UI/L; LDH: 173 UI/L; IgA: 51 mg/dL; IgG: 3910 mg/dL; IgM: 34 mg/dL; Cadena Kappa sérica: 1321 mg/dL; Cadena Lambda sérica: 54 mg/dL.
- **Proteinograma por Electroforesis** (27/12/2022): PT: 9,40 g/dL; Albúmina: 4,20 g/dL; α1 glob: 0,19 g/dL; α2 glob: 0,79 g/dL; β glob: 0,65 g/dL; γ glob: 2,89 g/dL; *Presencia de proteína M en zona γ globulinas.*



- **Examen físico** (03/01/2023): Buen estado general, ECOG 0; Karnofsky 90%. No se palpan organomegalias intra-abdominal. No presenta síntoma B. Sup Corporal 1.74 m². Ligero dolor a la palpación de la columna lumbosacra.
- **TAC de cráneo** (03/01/2023): Sin alteraciones significativas.
- **Citometría de flujo de médula ósea** (07/01/2022 - Determinación derivada): 17% de células plasmáticas cuyo inmunofenotipo expresa: CD38(+) intenso, CD138(+), CD19(-), CD56(+), CD117(+), CD20(+) parcial, con restricción clonal de cadenas

livianas de inmunoglobulinas citoplasmáticas tipo K. Inmunofenotipo compatible con posible Mieloma Múltiple.

- **Medulograma** (07/01/2022): Médula ósea normocelular para la edad, consistencia ósea ligeramente disminuía. Presencia de las tres series en todos sus estadios madurativos, con relación M:E 1:1. Megacariocitos, presentes en número y característica habitual. Destaca la presencia de un aumento en el número de plasmocitos, en ocasiones agrupados, de características atípicas, que representan el 22% de la celularidad global. No se observa infiltración por células no hematopoyéticas. Medulograma compatible con Mieloma Múltiple.
- Gracias a los marcadores β 2-M y Albúmina, se llegó a la clasificación del estadio **R-ISS I**.

TRATAMIENTO

Se inició tratamiento quimioterápico según protocolo RVd, con ciclos cada 28 días por un total de 6:

- *Bortezomib* 1,5 mg/m²/día. Dosis 2,9 mg (Días 1, 8, 15 y 22)
- *Lenalidomida* 25 mg/día (Días 1-21)
- *Dexametasona* 40 mg/día (Días 1, 8, 15 y 22)
- *Aciclovir* 800 mg/día desde el inicio del tratamiento con Bortezomib.
- *Ácido Zoledrónico* 4 mg. Día 1

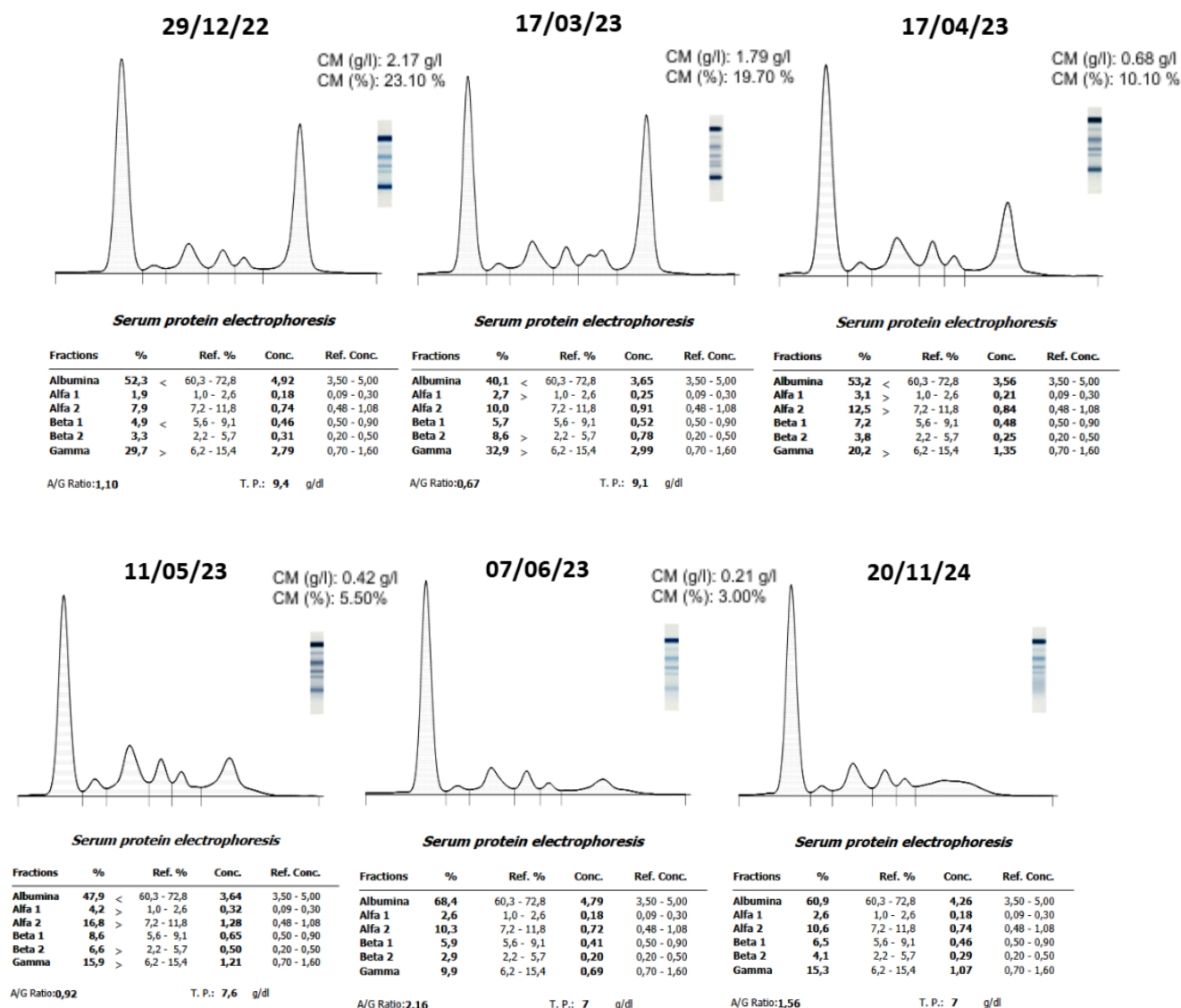
SEGUIMIENTO

Se realizaron a lo largo del tiempo y de forma periódica proteinogramas por electroforesis y laboratorios de fin de tratamiento:

- **Laboratorio** (11/09/2023): GR: 3.49 mill/mL; HTO: 33.1%; HB: 11.5 g/dL; VCM: 94.8 fL; GB: 5.600/mL; PMN: 56%; Linfocitos: 32%; Plaquetas: 365.000/mL; VES: 2 mm; U: 36 mg/dL; Cr: 0.77 mg/dL; Ca: 9.9 mg/dL; FAL: 66 U/L; LDH: 160 UI/L; IgA: 103 mg/dL; IgG: 765 mg/dL; IgM: 38 mg/dL; Cadena Kappa sérica: 180 mg/dL; Cadena lambda sérica: 116 mg/dL.
- **Proteinograma por electroforesis** (27/12/2023): Proteínas totales: 6.80 g/dL; albúmina: 4.56 g/dL; α 1-glob: 0.22 g/dL; α 2-glob: 0.78 g/dL; β glob: 0.65 g/dL; γ glob: 0.59 g/dL.

Habiendo logrado **remisión completa de la enfermedad**, se decide inicio de fase de mantenimiento con *Lenalidomida* 25 mg/día (1-21 días), ciclos cada 28 días por dos años y luego disminuir a 10 mg/día (1-21 días), ciclo cada 28 días.

A continuación se adjuntan los gráficos del Pxé y los valores del componente monoclonal (CM, por el cálculo del área bajo la curva) expresados en % y en g/l:



✓ DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES DEL CASO

Con respecto al caso desarrollado, la paciente acude al Hospital Escuela Eva Perón sin antecedentes clínicos relevantes y sus síntomas iniciales fueron inespecíficos, como anemia, dolor óseo y alteraciones en estudios de rutina, signos que pueden estar presentes en diversas patologías. La derivación al efector permitió realizar estudios clave como el

proteinograma, el dosaje de los marcadores β 2-M y Albúmina, así como el medulograma. Estas determinaciones, junto con la citometría de flujo en médula ósea, confirmaron desde distintos enfoques complementarios el diagnóstico de mieloma múltiple con expresión de cadenas ligeras tipo K, a predominio de IgG, en un estadio R-ISS I. La edad de la paciente también fue un elemento orientador para tal fin. El beneficio de un diagnóstico precoz quedó evidenciado en la evolución favorable de la paciente tras la pronta instauración del tratamiento: en los sucesivos PxE se observó una marcada disminución del componente M, acompañada por valores de laboratorio que progresivamente se fueron acercando a la normalidad.

✓ PERSPECTIVAS

Tras el análisis del caso clínico, se destaca el rol del laboratorio bioquímico desde el inicio y a lo largo de todo el proceso diagnóstico y terapéutico de las discrasias de células plasmáticas, ya que aporta herramientas fundamentales para tal fin, como las determinaciones mencionadas. Además, considerando que la paciente no presentaba antecedentes de jerarquía y que sus síntomas iniciales podrían haber sido fácilmente subestimados, se pone de relieve la importancia de que los profesionales de la salud presten atención a signos inespecíficos como anemia, dolor óseo o alteraciones en estudios de rutina, ya que pueden estar relacionados con patologías graves, como lo es el mieloma múltiple.

Finalmente, se puede reflexionar sobre la importancia de seguir fortaleciendo la intervención interdisciplinaria —clínico, bioquímico, oncohematólogo, imagenólogo— para lograr diagnósticos más rápidos y certeros. La implementación de protocolos de sospecha clínica ante hallazgos analíticos sugestivos (hiperproteinemia, anemia no explicada, dolor óseo persistente) podría favorecer la derivación precoz y la confirmación diagnóstica del mieloma múltiple u otras discrasias plasmáticas. En este sentido, se sugiere:

- Promover la capacitación continua del personal de salud sobre las manifestaciones iniciales del mieloma múltiple.
- Estimular la investigación local sobre la evolución del mieloma múltiple en distintas poblaciones y su correlación con factores pronósticos como la β 2-microglobulina, el estudio citogenético, entre otros, para mejorar la estratificación de riesgo y la personalización del tratamiento.

- Mejorar el acceso a estudios complejos como la citometría de flujo y el medulograma en todos los niveles del sistema de salud, garantizando así la equidad diagnóstica y terapéutica para todos los pacientes.

✓ AGRADECIMIENTOS

Al médico oncohematólogo Gustavo Braidot por su predisposición para asesorarnos sobre el caso, y al laboratorio central y de inmunología del HEEP por brindarnos las herramientas necesarias para elaborar este trabajo.

✓ BIBLIOGRAFÍA

National Cancer Institute. (2025, 2 de mayo). *Tratamiento del mieloma múltiple (PDQ®)* [Resumen para profesionales].

<https://www.cancer.gov/espanol/tipos/mieloma-multiple/pro/tratamiento-mieloma-pdq>
[cadenaser.com+15cancer.gov+15](https://www.cadenaser.com+15cancer.gov+15)

Mateos, M. V., & San Miguel, J. F. (2007). Mieloma múltiple. *Medicina Clínica*, 129(1), 3–13.

<https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-mieloma-multiple-13107365>

Pérez, J. C. J., & Almaguer, D. (2012). *Hematología. La sangre y sus enfermedades (3ra edición)*. Mc. Grawl. Hill

Editora Médica Colombiana S.A (2013). Inmunofijación en suero. *Medicina & Laboratorio*, volumen 19, números 7-8.

<https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2013/myl137-8f.pdf>

Comunidad Mieloma Múltiple. (2018, 21 de agosto). *10 cosas que debes saber sobre el tratamiento del mieloma múltiple*. Comunidad Mieloma Múltiple.

<https://www.comunidadmielomamultiple.com/10-cosas-que-debes-saber-sobre-el-tratamiento-del-mieloma-multiple/>

Importancia del laboratorio bioquímico en el abordaje de una neoplasia ginecológica oculta

Autor: Martina Tartaglini

Tutor: Dr. Raúl Supersaxco

Institución de rotación: Laboratorio de análisis Dr. Supersaxco

Presentación

El cáncer de ovario y sus variantes de origen anexial —como el carcinoma de trompas de Falopio, de útero y otros tumores del tejido circundante— constituyen un desafío diagnóstico, especialmente cuando se manifiestan en etapas avanzadas. En mujeres postmenopáusicas, los síntomas iniciales pueden ser inespecíficos y suelen asociarse erróneamente a patologías benignas.

En este contexto, el laboratorio bioquímico —y en particular los marcadores tumorales CA-125 y HE4— cobra un rol fundamental. Si bien estos marcadores no son completamente específicos, su elevación en sangre orienta hacia patologías ginecológicas. Su utilidad radica en complementar la información clínica e imagenológica, permitiendo guiar el diagnóstico cuando no existen lesiones primarias evidentes.

El presente trabajo aborda el caso de una paciente femenina de 72 años que debuta clínicamente con signos compatibles con carcinomatosis peritoneal. El motivo de consulta inicial fue un cuadro gastrointestinal inespecífico, con síntomas como dolor y distensión abdominal, alteraciones en el tránsito intestinal (estreñimiento o diarrea), náuseas y vómitos. A través de estudios por imágenes, análisis citológicos y determinación sérica de marcadores tumorales, el diagnóstico se orienta hacia una causa ginecológica primaria, posiblemente un adenocarcinoma seroso de alto grado.

El objetivo de este trabajo es integrar la información clínica y bioquímica para comprender cómo, en un contexto de diagnóstico incierto, los datos de laboratorio pueden ser esenciales para orientar la sospecha hacia un cáncer ginecológico oculto.

Marco teórico

La carcinomatosis peritoneal (CP) es una enfermedad neoplásica avanzada, frecuentemente asociada a un pronóstico desfavorable. Se caracteriza por la infiltración metastásica del peritoneo parietal y visceral, lo cual puede generar ascitis, dolor abdominal, alteraciones gastrointestinales y pérdida del estado general.

Suele observarse en la fase metastásica de carcinomas primarios gástricos y de ovarios, que son los que tienen mayor probabilidad de propagarse al peritoneo. En el

caso del cáncer de ovario, aproximadamente el 75 % de las pacientes desarrollan CP durante el curso de la enfermedad. Sin embargo, la CP también puede originarse a partir de neoplasias malignas del páncreas, mama, apéndice, vías biliares, hígado, pulmón o tracto genitourinario. En raras ocasiones, se trata de un tumor primario del peritoneo.

El diagnóstico de carcinomatosis peritoneal se basa en la detección de implantes tumorales en superficies serosas abdominales, los cuales pueden evidenciarse mediante estudios de imágenes. La cirugía de citoreducción en conjunto con la quimioterapia intraperitoneal hipertérmica (HIPEC) representa, en casos particulares, la estrategia terapéutica más eficaz para controlar la enfermedad y mejorar la sobrevida.

Cabe destacar la relevancia del análisis del líquido ascítico, en casos de ascitis, como apoyo diagnóstico. El estudio debe incluir una evaluación macroscópica, bioquímica, citológica y, en algunos casos, microbiológica. Desde el punto de vista bioquímico, se determina la concentración de albúmina en el líquido ascítico para calcular el gradiente albúmina sérica/ascítica (SAAG). En ascitis de origen tumoral, el SAAG suele ser $< 1,1$ g/dL, lo que indica que no hay hipertensión portal y orienta a un derrame peritoneal exudativo, como ocurre en la carcinomatosis. Además, el recuento celular suele mostrar un predominio de células mononucleares, y la citología puede revelar la presencia de células neoplásicas, permitiendo confirmar el compromiso maligno del peritoneo. En ciertos casos, se complementa el estudio con determinaciones como proteínas totales, lactato deshidrogenasa (LDH) y glucosa ascítica, que contribuyen a caracterizar mejor el tipo de ascitis (exudado vs. trasudado).

El cáncer de ovario (CO) es un tumor maligno común en ginecología, con una tasa de incidencia que lo sitúa en tercer lugar después del cáncer de cuello uterino y cuerpo uterino. Se caracteriza por una alta tasa de recurrencia y metástasis, y bajo índice de supervivencia. Los carcinomas ováricos se clasifican según el tejido de origen (epiteliales, estromales o de células germinales), el tipo celular afectado (serosos, mucinosos, endometrioides, de células claras, transicionales o de células escamosas) y el grado tumoral (bajo o alto grado). El carcinoma seroso de alto grado de ovario epitelial es la neoplasia ginecológica más frecuente y letal, y se

asocia con mutaciones en la TP53 como evento inicial (demarca predisposición genética). En la mayoría de los casos, el diagnóstico se realiza en estadios avanzados, en parte debido a su evolución silente y a la inespecificidad de los síntomas, que incluyen distensión abdominal, dolor pélvico, cambios en el tránsito intestinal, pérdida de peso o saciedad precoz.

Existen factores de riesgo y protectores bien establecidos para el desarrollo de cáncer de ovario. Entre los factores de riesgo se encuentran: antecedentes familiares de cáncer de ovario o mama, mutaciones en genes BRCA1/2, nuliparidad, uso prolongado de estrógenos (terapia de reemplazo hormonal), y tabaquismo en algunos subtipos. En cambio, entre los factores protectores se incluyen: embarazo a término, uso de anticonceptivos orales combinados y ligadura de trompas.

Al igual que en la carcinomatosis peritoneal, el tratamiento estándar del cáncer de ovario en estadios avanzados se basa en la cirugía citoreductora, seguida de quimioterapia sistémica basada en platinos. A pesar de la influencia de otros factores —como el estadio clínico y la clasificación histológica—, el desenlace quirúrgico es el factor pronóstico más importante.

En este contexto, los marcadores tumorales representan herramientas fundamentales para el abordaje diagnóstico, el seguimiento terapéutico y la evaluación pronóstica. Los marcadores tumorales son sustancias secretadas por las células tumorales o producidas por la interacción entre el tumor y el organismo en el proceso de transformación maligna. Su presencia o cambios en su concentración sérica reflejan tanto la existencia como el crecimiento y desarrollo del tumor.

El marcador tumoral CA-125 (antígeno de cáncer 125) es una glicoproteína tipo mucina de alto peso molecular, codificada por el gen MUC16, y se expresa en la membrana celular de células mesoteliales de cavidades serosas, así como también en epitelios del aparato genital femenino. Si bien puede encontrarse elevado en condiciones fisiológicas o patológicas no malignas (menstruación, embarazo, endometriosis y peritonitis) lo que limita su especificidad, su mayor utilidad clínica se observa en el seguimiento y detección de recidivas en pacientes con cáncer de ovario epitelial, donde muestra alta sensibilidad (estadios avanzados). Sin embargo, su uso en etapas tempranas es limitado, ya que solo se eleva en alrededor del 50 % de los casos. En mujeres postmenopáusicas con ascitis y carcinomatosis peritoneal,

un valor elevado de CA-125 posee alto valor predictivo positivo para cáncer ginecológico.

Complementariamente, el marcador HE4 (proteína epididimal humana 4) es una glicoproteína de la familia WFDC (Whey Acidic Protein Four-Disulfide Core Domain), codificada por el gen WFDC2, cuya expresión se encuentra aumentada en tejidos de carcinoma de ovario y endometrial. Este marcador demuestra mejorar la especificidad del CA-125, especialmente en la diferenciación entre masas anexiales benignas y malignas, ya que su concentración sérica no se ve tan influenciada por otras condiciones fisiológicas o patológicas benignas. Sin embargo, factores como el tabaquismo y el uso de ciertos métodos anticonceptivos producen variaciones séricas de HE4, lo cual debe considerarse al interpretar los resultados. HE4 también resulta útil en el monitoreo del tratamiento, principalmente en pacientes con valores normales de CA-125.

La combinación de ambos marcadores (CA-125 + HE4) mejora notablemente la especificidad diagnóstica: un valor aumentado de los 2 marcadores en simultáneo es sugestivo de malignidad ovárica. Esta combinación se aplica en algoritmos como el ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm), que incorpora los niveles de ambos marcadores junto con el estado menopáusico, y muestra mejor sensibilidad y especificidad que los marcadores individuales, especialmente en mujeres postmenopáusicas. El RMI (Risk of Malignancy Index) es otro índice útil que integra el nivel de CA-125, los hallazgos ecográficos y el estado hormonal de la paciente.

Para la determinación de estos marcadores se emplean técnicas automatizadas como ECLIA (electroquimioluminiscencia) y CMIA (inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas), que muestran buena correlación con los métodos de referencia y se utilizan ampliamente en la práctica clínica. Dado que los niveles de HE4 varían según el estado menopáusico, se utilizan puntos de corte específicos: < 70 pmol/L para mujeres premenopáusicas y < 140 pmol/L para postmenopáusicas. En el caso del CA-125, el límite superior considerado es de 35 UI/mL, independientemente de la etapa reproductiva.

El laboratorio clínico de rutina también puede aportar información importante en pacientes con patología oncológica avanzada. La anemia normocítica o microcítica puede reflejar pérdida sanguínea crónica o inflamación. La hipoalbuminemia y las

alteraciones en el perfil proteico son frecuentes en cuadros con ascitis significativa. Los marcadores inflamatorios, como la proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de eritrosedimentación (VES), suelen encontrarse elevados y reflejan un estado inflamatorio crónico sistémico. En etapas avanzadas, también puede observarse deterioro de la función hepática o renal, dependiendo de la extensión tumoral o del compromiso de órganos vecinos.

Resultados

Con el objetivo de sintetizar el abordaje diagnóstico, se incluye a continuación una tabla (*tabla 1*) que resume los estudios más relevantes realizados a la paciente, junto con sus principales hallazgos e interpretación clínica y bioquímica. Esta secuencia evidencia cómo la integración entre los datos del laboratorio, las imágenes y la citología permitió orientar el diagnóstico hacia una neoplasia ginecológica oculta con compromiso peritoneal.

Fecha	Estudio realizado	Hallazgos principales	Interpretación
25/06/2024	Colono-videos copia	Mucosa de aspecto normal. No se reportan hallazgos patológicos.	Descarta patología tumoral colorrectal.
05/09/2024	Ecografía mamaria	Parénquima mamario conservado. No se observan lesiones nodulares ni formaciones quísticas. Ausencia de adenopatías axilares bilaterales.	Descarta neoplasia primaria mamaria evidente.
05/09/2024	Ecografía transvaginal	Útero de forma y ecogenicidad conservadas. Anexos sin imágenes sugestivas de lesión.	Estudio sin hallazgos ecográficos patológicos evidentes. Dada la sospecha clínica persistente, se indica imágenes de mayor resolución.
28/01/2025	Ecografía abdominal	Moderado líquido libre perihepático, inter-asas y en pelvis, de aspecto altamente proteico, y abundante meteorismo.	Sugiere un proceso peritoneal, tumoral primario o secundario. Se indica TAC y análisis del líquido ascítico para

		Hígado, bazo, páncreas y vesícula biliar de aspecto ecográfico normal.	caracterizar mejor la causa del derrame.
24/02/2025	Tomografía computada de abdomen y pelvis	Múltiples imágenes nodulares sólidas que afectan al epiplón mayor. Líquido libre perihepático, periesplénico, inter-asas y en cavidad pélvica. Imágenes quísticas y aumento de tamaño de ambos anexos.	Imágenes compatibles con secundarismo peritoneal. Sugiere un componente neoformativo primitivo o secundario en los ovarios.
20/03/2025	Histopatología y citología	1. <u>Implante peritoneal</u> : tejido fibroadiposo multinodular correspondiente a peritoneo infiltrado por adenocarcinoma grado 2 – 3 nuclear. 2. <u>Epiplón mayor</u> : epiplón mayor infiltrado por el adenocarcinoma en disposición multinodular. 3. <u>Líquido ascítico</u> : líquido amarillo y espeso. Citología positiva para células neoplásicas.	La citología ascítica confirma el origen maligno de la ascitis. La biopsia peritoneal infiltrada por carcinoma seroso de alto grado refuerza la sospecha del origen tubo-ovárico o peritoneal primario de la neoplasia.
07/04/2025	Marcadores tumorales séricos	<u>CA-125</u> : 514,3 UI/mL (valor de referencia: < 35 UI/mL) <u>HE4</u> : 510 pmol/L (valor de referencia postmenopáusicas: < 140 pmol/L)	CA-125 y HE4 marcadamente elevados, en el contexto de ascitis y carcinomatosis peritoneal, son sugestivos de neoplasia anexial maligna, en particular de origen ginecológico epitelial.
23/06/2025	Laboratorio bioquímico de rutina	A destacar: - VES 24 mm/h - PCR 65 mg/L	En el laboratorio actual y en controles previos se observa una moderada elevación de la VES y PCR, compatible con un

		- Plaquetas 135.000/mm ³ - Glóbulos blancos 3370/mm ³ , e inversión de la fórmula leucocitaria, con predominio relativo de linfocitos (59,1 %) sobre neutrófilos (21,9 %). - Anisocitosis con recuento de glóbulos rojos e índices hematimétricos normales.	estado inflamatorio crónico, habitual en neoplasias avanzadas. La trombocitopenia leve podría vincularse a consumo o redistribución secundaria a la ascitis, y la presencia de leucopenia con inversión de fórmula sugiere una posible respuesta inmune crónica y/o alterada en el contexto tumoral.
--	--	--	---

Tabla 1. Síntesis cronológica de los hallazgos clínicos, imagenológicos y de laboratorio.

Discusión y conclusiones

Este caso ejemplifica cómo una presentación clínica inespecífica puede corresponder a una neoplasia maligna oculta, en particular de origen ginecológico, dada su evolución silenciosa y la escasa presencia de signos de alerta temprana. En ausencia de lesiones evidentes en los estudios por imágenes iniciales, el rol del laboratorio bioquímico fue clave para orientar la sospecha diagnóstica.

La elevación marcada de CA-125 y HE4 en una paciente postmenopáusica, en conjunto con la citología ascítica positiva y la biopsia peritoneal, permitió llegar al diagnóstico de carcinoma seroso de alto grado. Si bien CA-125 es superior a HE4 en su capacidad para identificar a mujeres con tumores ováricos, sus valores séricos se ven afectados por múltiples factores, por lo que debe complementarse con HE4, ya que presenta mayor especificidad para cáncer de ovario epitelial.

Cuando ambos marcadores se encuentran elevados, como en este caso, es necesario considerar un origen maligno y, por lo tanto, se debe acompañar con un examen anatomopatológico para confirmar el diagnóstico. En situaciones donde uno de los marcadores se eleva y el otro permanece dentro del rango, puede ser útil realizar un seguimiento seriado como estrategia de monitoreo.

Este caso refuerza la importancia de combinar varios marcadores para mejorar tanto la sensibilidad como la especificidad diagnóstica.

Perspectivas

Dado que los niveles séricos de los marcadores tumorales están relacionados con diferentes factores clinicopatológicos —estadificación clínica, tipo histológico, recurrencia y metástasis— se propone en este caso particular realizar un control seriado de los mismos, a fin de evaluar la respuesta al tratamiento, detectar recidivas tempranas y estimar el pronóstico de forma complementaria al seguimiento clínico e imagenológico. Su aplicación continua podría mejorar la monitorización de la enfermedad y permitir una estrategia terapéutica más personalizada. Además, teniendo en cuenta que los niveles de HE4 aumentan con la edad, podría ser interesante establecer valores de referencia y algoritmos que consideren la edad de la paciente y no solo su estado menopáusico.

Asimismo, se considera relevante la implementación de algoritmos como ROMA, así como la incorporación de índices inflamatorios simples —NLR (relación neutrófilos/linfocitos) y PLR (relación plaquetas/linfocitos)— en la evaluación integral del paciente, particularmente en casos de carcinoma ovárico, ya que pueden tener valor pronóstico complementario: valores elevados son indicativos de peor respuesta a la quimioterapia de primera línea y menor sobrevida libre de progresión.

En un escenario clínico incierto y complejo, el aporte del bioquímico no radica solo en obtener resultados confiables, sino en brindar herramientas que transformen los datos en decisiones clínicas útiles. Casos como este reafirman el valor del laboratorio en el diagnóstico y seguimiento individualizado del paciente oncológico.

Bibliografía

1. Meucci, R., Prosperi, D., Lauri, C., Campagna, G., Nayak, P., Garaci, F. y Signore, A. (2024). *Carcinomatosis peritoneal de origen ginecológico maligno: Una revisión sistemática de la evaluación por imagen*. Journal of Clinical Medicine, 13(5), 1254. <https://doi.org/10.3390/jcm13051254>
2. Cascales Campos, P., Muñoz Casares, C., Rufán Peña, S., Ortega Salas, R., & Torres Melero, J. (2009). *Carcinomatosis peritoneal mucinosa de ovario y pseudomixoma peritoneal de origen ovárico: ¿Son sinónimos?* Cirugía española, 85(1), 55-57. [https://doi.org/10.1016/S0009-739X\(09\)70089-2](https://doi.org/10.1016/S0009-739X(09)70089-2)
3. González-Mariño, Mario Arturo. (2020). *Carcinoma seroso de ovario. Serie de 14 casos y revisión de la bibliografía*. Ginecología y obstetricia de México, 88(7), 442-449. <https://doi.org/10.24245/gom.v88i7.3208>
4. Dochez, V., Caillon, H., Vaucel, E., et al. (2019). *Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review*. Journal of ovarian research, 12(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s13048-019-0503-7>
5. Van Gorp, T., Cadron, I., Despierre, E., Daemen, A., Leunen, K., Amant, F., Timmerman, D., De Moor, B., & Vergote, I. (2011). *HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer: prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm*. British journal of cancer, 104(5), 863-70. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6606092>
6. Tenesaca, Joselyn Sánchez, & Pérez, Edison Galarraga. (2022). *Marcadores tumorales CA125, He4 e índice ROMA en cáncer de ovario*. Vive Revista de Salud, 5(15), 927-936. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v5i15.199>
7. Wan, Q., Liu, Y., Lv, B., & Chen, X. (2021). *Correlation of Molecular Tumor Markers CA125, HE4, and CEA with the Development and Progression of Epithelial Ovarian Cancer*. Iranian journal of public health, 50(6), 1197-1205. <https://doi.org/10.18502/ijph.v50i6.6418>

Estudio de Alergias en el Laboratorio Clínico

Asignatura: Práctica Profesional Obligatoria

Autora: Petinari, Lucía S.

Tutor: Bioq. Rébola, Alfredo

Institución de rotación: Laboratorios de análisis clínicos y microbiológicos *SILAB*

PRESENTACIÓN: *Durante las Prácticas Profesionales Obligatorias en el laboratorio Silab, en el área de Bioquímica Clínica, donde se cuenta con tecnología de avanzada y un equipo de expertos capacitados para el diagnóstico de alergias, me propuse analizar la intervención del profesional bioquímico junto con el equipo médico especialista para optimizar el diagnóstico y, en consecuencia, mejorar significativamente la calidad de vida de pacientes con estas afecciones.*

MARCO TEÓRICO: Durante la respuesta inmune se erradican normalmente a los microorganismos infecciosos sin una lesión importante de los tejidos del hospedador; no obstante, las mismas reacciones inmunitarias que nos protegen contra infecciones también pueden *infligir mucho daño*, no simplemente a un agente patógeno sino a las células y tejidos del huésped. En estas situaciones, la respuesta inmune, que normalmente sería beneficiosa, produce las *enfermedades por hipersensibilidad*.

Dentro de las alteraciones que se producen en el sistema inmune, se encuentran las reacciones de hipersensibilidad; este término hace referencia, según los diccionarios médicos, a una situación anómala, en la que el organismo reacciona con una respuesta inmunitaria exagerada o inapropiada frente a algo que percibe como una sustancia extraña (antígenos foráneos o antígenos propios).

Las enfermedades por hipersensibilidad se clasifican según el tipo de respuesta inmunitaria y el mecanismo efector.

- e. **Tipo I**, que se caracterizan por la liberación de sustancias vasoactivas y espasmogénicas que van a actuar sobre los vasos sanguíneos y sobre el músculo liso. También se producen citoquinas proinflamatorias.
- f. **Tipo II**, intervienen anticuerpos que predisponen a la fagocitosis y lisis.
- g. **Tipo III**, también conocidas como enfermedades causadas por inmunocomplejos, donde los anticuerpos ligan antígenos y activan el complemento. En estas reacciones, la lesión o el daño tisular va a estar llevado a cabo por esta activación del complemento.
- h. **Tipo IV**, que se caracterizan por ser una respuesta inmune celular mediada por linfocitos T (pueden ser CD4 o CD8 que previamente han sido sensibilizados, es decir, son linfocitos T efectores).

Las reacciones de **hipersensibilidad tipo I**, también se las llama **hipersensibilidad inmediata** porque se presenta en minutos u horas después del desafío antigénico y tiene consecuencias patológicas importantes. A estas reacciones se las conoce como **reacciones alérgicas o reacciones atópicas**. A los individuos que tienen estas reacciones de

hipersensibilidad de tipo I se los llama **individuos alérgicos o atópicos**. Los antígenos que provocan este tipo de reacciones se llaman **alérgenos**, y son generalmente proteínas comunes o sustancias químicas que van a producir efectos en individuos que tienen una predisposición a tener una reacción de hipersensibilidad tipo I, y no en aquellos que no la tienen.

Los individuos atópicos, tienen una predisposición genética para producir anticuerpos IgE en respuesta a diferentes antígenos, lo que desencadena reacciones de hipersensibilidad. A diferencia de los individuos que no son alérgicos, los individuos atópicos presentan una respuesta inmune dominada por un perfil Th2, que induce la producción de IgE. La **atopía** es factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades alérgicas, se estima que un niño tiene un 60% de probabilidad de desarrollar atopía si uno de sus padres es alérgico, y un 80% si ambos padres lo son. Si bien no se sabe cuáles son las causas genéticas subyacentes, estudios sugieren que hay un componente genético en la susceptibilidad a las alergias.

Los componentes de las reacciones de tipo I van a ser: el **alérgeno**, la **IgE**, los **mastocitos y basófilos** y los **receptores para el Fc de la IgE**.

Los **alérgenos** son antígenos ambientales inocuos, capaces de estimular respuestas inmunitarias de tipo Th2 en individuos alérgicos. Generalmente, estos alérgenos son proteínas ambientales que afectan principalmente a la piel y los tractos respiratorio y gastrointestinal, debido a su exposición directa con el medio ambiente.

Poseen características específicas que los hacen particularmente efectivos para desencadenar reacciones de hipersensibilidad de tipo 1. Estas características incluyen: capacidad de provocar reacciones a bajas concentraciones, bajo peso molecular que les permite ser transportados fácilmente por el aire, actividad enzimática que puede dañar las mucosas, alta solubilidad y estabilidad frente a cambios de temperatura y otros factores ambientales. Además, algunos alérgenos pueden actuar como haptenos, requiriendo unión a otras proteínas para ser inmunogénicos.

Los alérgenos que provocan reacciones alérgicas en individuos provienen de diversas fuentes, incluyendo: pólenes, proteínas de ácaros, insectos, hongos, animales (como el pelo de gato), alimentos (como frutilla, chocolate, pescado y maní), medicamentos (como la penicilina); látex, metales y picaduras de insectos.

Las **IgE** son los anticuerpos clave en las reacciones alérgicas de tipo I. Se producen localmente en las mucosas por plasmocitos, generalmente en el sitio donde se encuentra el antígeno y se producirá la reacción alérgica. La síntesis de IgE es estimulada por linfocitos T, específicamente por las citoquinas **IL4** e **IL13**, secretadas por células Th2, que promueven el switch isotípico a IgE. Una vez producidas, las IgE se unen a sus receptores para Fc en mastocitos y basófilos, sensibilizándolos. Aunque solo el 1% de los plasmocitos producen IgE en individuos normales, en los pacientes alérgicos esta proporción aumenta significativamente, llegando alrededor del 20%.

Los **mastocitos** son células derivadas de la médula ósea que se diferencian a partir de células **CD34 positivas** estimuladas por la **IL3** y otros factores de crecimiento. Se encuentran

ampliamente distribuidos en tejidos, especialmente cerca de vasos sanguíneos y en áreas subepiteliales, donde hay una mayor interacción entre el medio ambiente. Son responsables de las reacciones locales de hipersensibilidad tipo 1 y se encuentran en mucosas y submucosas del tracto gastrointestinal, respiratorio, piel, y órganos linfoides. Los mastocitos son células mononucleares, con un citoplasma abundante y gránulos que contienen mediadores químicos activos, como aminas vasoactivas y espasmogénicas. Poseen receptores para el fragmento Fc de la IgE. Los **basófilos** son células circulantes que también poseen receptores Fc para IgE y gránulos citoplasmáticos. Aunque no se encuentran habitualmente en los tejidos, son atraídos hacia el foco inflamatorio o la reacción alérgica, donde la IgE los activa y liberan el contenido de sus gránulos.

Los mastocitos y los basófilos comparten similitudes estructurales y funcionales, y contienen gránulos citoplasmáticos que almacenan mediadores claves de las reacciones alérgicas. Estos mediadores son los principales responsables del **daño tisular** que caracteriza a estas reacciones. En un segundo encuentro con el antígeno, éste se fija a los mastocitos y basófilos, formando puentes entre dos moléculas de IgE vecinas, desencadenando la liberación del contenido de los gránulos preformados. La unión de la IgE al antígeno induce la activación de los mastocitos y basófilos, lo que lleva a la liberación de mediadores preformados y a la síntesis de novo de mediadores lipídicos, como prostaglandinas y los leucotrienos derivados del ácido araquidónico. Además, se produce la síntesis y secreción de citoquinas proinflamatorias, principalmente el TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa).

Los mediadores preformados almacenados en los gránulos de los mastocitos y basófilos incluyen histamina, serotonina, heparina, peroxidasas y proteasas. Además, estas células sintetizan de novo citoquinas, quimioquinas, prostaglandinas, leucotrienos y algunos factores de crecimiento.

En una etapa más tardía de la reacción de hipersensibilidad tipo 1, los **eosinófilos** son atraídos al sitio de inflamación por quimioquinas, por **IL5**, liberada principalmente por las células Th2. La IL5 promueve la migración de los eosinófilos desde la circulación hacia el foco inflamatorio ("rolling") donde contribuyen a la respuesta alérgica; liberan gránulos que contienen proteínas citotóxicas, como la **proteína básica mayor**, que incrementa la actividad del músculo liso y desencadena la desgranulación de mastocitos y basófilos. Otras proteínas liberadas incluyen la proteína catiónica del eosinófilo, que induce la formación de poros y la muerte celular, la neurotoxina y la peroxidasa del eosinófilo. Además, se producen intermediarios reactivos del oxígeno y leucotrienos, que contribuyen a los efectos citotóxicos sobre células y tejidos incluyendo muscular y epitelial. Los eosinófilos también potencian la activación de los mastocitos, lo que agrava la reacción de hipersensibilidad. En este proceso, las células Th2 desempeñan un papel clave, secretando citoquinas que promueven el daño hístico y perpetúan la respuesta inflamatoria.

En individuos no atópicos, los mastocitos y basófilos tienen receptores para el Fc de la IgE cubiertos por IgE de diversas especificidades. En contraste, los individuos atópicos, presentan una sobreproducción de IgE específica para un antígeno (para el alérgeno), lo que resulta en una mayor cantidad de IgE específica unida a los receptores de los mastocitos.

Esto aumenta la probabilidad de que, al entrar en contacto con el antígeno, se produzca el entrecruzamiento de los receptores y la activación de las células.

En la primera exposición al antígeno, se activa la respuesta inmune y los linfocitos Th2 interactúan con los linfocitos B, específicamente con los linfocitos T helper foliculares, en un proceso de cooperación T-B. Durante esta interacción, los linfocitos Th2 liberan citoquinas que inducen que este linfocito B haga un switch a IgE.

La IgE se une a los mastocitos y, cuando estos se exponen nuevamente al antígeno, se desgranulan y liberan mediadores que desencadenan reacciones de hipersensibilidad inmediata, caracterizadas por la acción de aminas vasoactivas y mediadores lipídicos. Además, se producen reacciones más tardías, mediadas por citoquinas sintetizadas por los mastocitos, que contribuyen a la inflamación y disfunción orgánica. La reacción inflamatoria induce el reclutamiento de leucocitos, iniciando la fase tardía de los procesos alérgicos, en los que participan eosinófilos y linfocitos Th2, que perpetúan la inflamación en el foco de la reacción alérgica.

El **epitelio** desempeña un papel crucial en el desarrollo de las reacciones alérgicas de hipersensibilidad de tipo 1. Los alérgenos pueden interactuar con el epitelio a través de receptores de reconocimiento de patrones, lo que activa a las células epiteliales y las induce a producir citoquinas claves, como la linfopoyetina estromal tímica (**TSLP**), la **IL25** y la **IL33**. Estas citoquinas promueven la interacción entre las células dendríticas y los linfocitos T, orientando la diferenciación de estos últimos hacia un perfil Th2. Las citoquinas liberadas por las células Th2 tienen efectos perjudiciales sobre diferentes células y tejidos.

En las reacciones de hipersensibilidad de tipo 1 tenemos la fase de sensibilización, la fase efectora, y en algunos casos, estas reacciones pasan a la cronicidad.

La primera fase es la **sensibilización o exposición previa al antígeno**. Luego se produce una fase temprana o **reacción alérgica aguda**, caracterizada por la liberación de mediadores, y la participación de los mastocitos como principales efectores. En esta fase, las reacciones cutáneas incluyen máculas o pápulas eritematosas y prurito, mientras que en las vías aéreas superiores se produce congestión nasal y rinorrea acuosa; en las vías aéreas inferiores, broncoespasmo.

En la **fase tardía**, que ocurre entre 6 y 9 horas después de la exposición al alérgeno si no se trata, los eosinófilos y células Th2 comienzan a participar. En la piel, se manifiesta edema ligeramente indurado y eritema, mientras que en las vías aéreas superiores se produce congestión con bloqueo nasal; y en las vías aéreas inferiores, la broncoconstricción se vuelve más intensa.

Los mediadores vasoactivos liberados por los mastocitos y basófilos, como la **histamina**, **prostaglandinas** y **leucotrienos** son los responsables de los efectos fisiológicos observados, incluyendo aumento de la permeabilidad vascular, vasodilatación, contracción del músculo liso bronquial, relajación de la musculatura lisa vascular, hipotensión arterial y estimulación de la secreción de glándulas exocrinas. Además, estos mediadores influyen en la función de las células dendríticas, promoviendo la diferenciación hacia un perfil Th2.

La **anafilaxia** es la consecuencia principal de las reacciones de hipersensibilidad. Se trata de una reacción alérgica sistémica, aguda y potencialmente mortal, que se produce minutos después del contacto con el alérgeno en una persona previamente sensibilizada. La anafilaxia puede ser causada por broncoespasmo o shock hipovolémico, y se caracteriza por la liberación súbita de mediadores por parte de los mastocitos y basófilos, mediada por IgE. Cuando las reacciones son graves se denominan *reacciones anafilácticas*.

Las reacciones de hipersensibilidad de tipo 1 subyacen a diferentes tipos de patologías y son responsables de diferentes enfermedades que van desde patologías agudas como: rinitis, conjuntivitis, alergias alimentarias; hasta patologías crónicas, como el asma o la dermatitis atópica.

El médico puede explorar las reacciones o ver si un paciente es alérgico o no a través de un test se llama **test de puntura o skin prick test**, que consiste en la administración de un alérgeno en poca cantidad, para luego observar si hay una reacción inflamatoria en el sitio de inoculación.

Las técnicas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de alergia tratan, por una parte, de analizar la respuesta causal específica, intentando identificar el alérgeno responsable de los síntomas del paciente; y, por otra, determinar el mecanismo inmunológico de la reacción alérgica para favorecer un adecuado control y tratamiento del paciente. En función de la fracción de la sangre en la que se realizan estos análisis, las técnicas se pueden clasificar en dos: las técnicas serológicas (determinación de inmunoglobulinas que desencadenan la reacción alérgica y determinación de mediadores de la respuesta alérgica) y las técnicas celulares (evaluación de la respuesta celular a determinados alérgenos).

Las técnicas serológicas identifican, y en algunos casos cuantifican, las moléculas que se encuentran en el suero del paciente. Estas moléculas son, por un lado, los mediadores de la reacción alérgica que las células liberan tras el encuentro con el alérgeno, y por otro las inmunoglobulinas o anticuerpos, que reconocen el alérgeno y son la llave que desencadena la reacción. Los mediadores más frecuentemente analizados en el diagnóstico de la alergia son la **triptasa** y la **histamina**. Las técnicas serológicas también permiten identificar las **inmunoglobulinas o anticuerpos específicos** frente a un alérgeno. El análisis que más habitualmente se solicita en el diagnóstico de alergia es la determinación de inmunoglobulinas del tipo E (IgE), que median las reacciones alérgicas de tipo inmediato; es decir, aquellas que ocurren a los minutos de la exposición al alérgeno. Es posible cuantificar tanto los niveles totales de esta inmunoglobulina, es decir, la IgE total, como las específicas frente a un alérgeno concreto, la IgE específica. Esta IgE específica, identifica el alérgeno o molécula a la que el paciente está sensibilizado, que puede ser la responsable de la reacción alérgica.

¿Cómo se realizan las técnicas serológicas para diagnosticar la alergia?

Generalmente consisten en exponer el suero del paciente, que contiene las inmunoglobulinas o los mediadores que queremos cuantificar, a una superficie o una

solución que contiene el alérgeno (en el caso de la determinación de IgE específica), o un anticuerpo que reconoce todos los anticuerpos del tipo IgE (para la determinación de la IgE total) o el mediador que se desee cuantificar (p. ej., la triptasa). Posteriormente, se añade un anticuerpo detector que se une al tipo de anticuerpo que queremos reconocer (como la IgE) o a los mediadores (como triptasa), y está marcado con una enzima capaz de transformar una sustancia química en una señal lumínica o colorimétrica. La señal obtenida será proporcional a la cantidad de inmunoglobulina o mediadores captados por el sistema de detección. Todas estas técnicas están totalmente automatizadas, estandarizadas y ofrecen resultados altamente reproducibles.

Estas determinaciones de IgE específica se pueden hacer de manera individual frente a un solo alérgeno, pero también existen las técnicas de matrices de alérgenos (microarrays y macroarray), que posibilitan la detección de IgE específica frente a decenas de alérgenos (en algunos casos más de doscientos), de forma simultánea, utilizando una pequeña cantidad de suero. Hoy día, se dispone de un amplio panel de alérgenos para la determinación de la IgE específica frente a pólenes, alimentos, ácaros, hongos o epitelios de animales. Sin embargo, el panel disponible para diagnosticar alergia frente a los medicamentos sigue siendo bastante limitado.

¿Se puede predecir la alergia mediante un análisis de sangre?

No se puede predecir la aparición de una alergia mediante una prueba in vitro, las pruebas sanguíneas informan sólo sobre sensibilización y puede ocurrir que esta sensibilización no se traduzca en reacción alérgica.

¿Es indispensable realizar análisis de sangre una vez que se realizan las pruebas cutáneas?

Si bien es cierto que las pruebas cutáneas cuentan con una alta sensibilidad, son económicas y fáciles de realizar, los análisis de sangre en alergología aportan una información adicional que complementa el diagnóstico in vivo en la mayoría de los casos. De hecho, la determinación de la **IgE específica** presenta una **mayor especificidad** que las pruebas cutáneas. De tal manera que con las pruebas cutáneas es posible seleccionar a un gran número de pacientes, entre los que se incluirían los verdaderos alérgicos, pero también algunos de ellos que no lo son realmente (falsos positivos), y que con la determinación de la IgE son identificados en un elevado porcentaje. De esta manera, la combinación de ambas pruebas aumenta el rendimiento diagnóstico. Además, mientras que las pruebas cutáneas no son cuantitativas, la determinación de la IgE específica sí lo es. Es importante destacar que un mayor tamaño del habón obtenido en la prueba cutánea no siempre se relaciona con un mayor nivel de IgE específica. Puede decirse que las pruebas cutáneas se complementan con las pruebas en sangre, si bien en aquellas ocasiones en las que no está indicada la realización de las pruebas cutáneas (ya sea por la toma de medicamentos que interfieren con ellas, o por la presencia de problemas cutáneos), los análisis de sangre serán el único tipo de diagnóstico disponible para el médico.

¿Qué medidas se deben tener en cuenta antes de realizar un análisis de sangre para el diagnóstico alergológico?

Para la realización de los análisis sanguíneos para el diagnóstico de las reacciones alérgicas no es necesario estar en ayunas. Sin embargo, se deberá mantener el ayuno, si además de las pruebas de alergia se le ha solicitado otros análisis que así lo requieran.

Metodologías disponibles para determinación de IgE:

PRIST (Paper disk Radio ImmunoSorbent Test): Es utilizada para medir los niveles de IgE total en sueros. La IgE sérica está presente normalmente en bajas concentraciones y se encuentra aumentada, por ejemplo, en pacientes alérgicos.

RAST (disk RadioAllergoSorbent Test): Es utilizada para dosar los niveles de IgE específica para un alérgeno en particular.

ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay): Es utilizada para dosar los niveles de IgE específica para un alérgeno en particular.

ImmunoCAP-FEIA (fluoroinmunoanálisis): Es utilizada para dosar los niveles de IgE específica para un alérgeno en particular. Los paneles de alérgenos preestablecidos de ImmunoCAP están formados por una selección de alérgenos para síntomas específicos. Estos paneles permiten identificar el alérgeno o alérgenos causantes para que se pueda definir de forma más completa y precisa el tratamiento.

Hay otros test (técnicas celulares), como por ejemplo la demostración de degranulación de basófilos. Se llama **test de activación de basófilos** y se realiza la determinación de basófilos activados por citometría de flujo, a través del estudio de la expresión de CD63 y CD203, que son dos moléculas que van a tener los basófilos en su membrana cuando están activados. También se puede realizar la determinación de algunos mediadores inflamatorios por inmunoensayo, como por ejemplo la **cuantificación de histamina y triptasa** que se tiene que hacer en el momento en que está ocurriendo la reacción alérgica, hasta tres horas después de la reacción de hipersensibilidad.

Tratamiento: El principal tratamiento es evitar el contacto con el alérgeno, pero también se administran antihistamínicos, esteroides, algunas drogas que estabilizan gránulos de los mastocitos, inhibidores competitivos de los leucotrienos. Hay algunos ensayos de inmunoterapia que tratan de desensibilizar a los pacientes, y también hay algunas pruebas clínicas o ensayos clínicos que se están probando con anticuerpos monoclonales.

Los antihistamínicos son los fármacos más empleados en el tratamiento de las enfermedades alérgicas y actúan inhibiendo los efectos de la histamina. Los corticoides son medicamentos de gran trascendencia, tanto por su eficacia como por los diversos efectos secundarios que pueden provocar. Están indicados para el tratamiento de las manifestaciones broncopulmonares, óculo-nasales y cutáneas de diversas enfermedades alérgicas, así como para el tratamiento de urgencia de las reacciones graves, junto con la adrenalina. En la actualidad se dispone también de fármacos biológicos para el tratamiento de enfermedades alérgicas graves. Además de los tratamientos convencionales para los procesos alérgicos, existen técnicas de medicina complementaria y alternativa, las cuales no han podido demostrar una clara eficacia. La vacunación con extractos alérgicos es un

tratamiento que, además de mejorar los síntomas de la enfermedad y reducir las necesidades de otros medicamentos para su control, puede ser capaz de detener la progresión de la enfermedad alérgica.

RESULTADOS: En las prácticas realizadas, se utilizó el equipo Alex²®, el cual realiza una prueba múltiple de IgE in vitro, basado en ELISA que permite mediciones simultáneas de IgE total e IgE específica. Cuenta con un panel de 295 alérgenos: 117 extractos de alérgenos y 178 alérgenos moleculares que incluyen alimentos, pólenes, ácaros, epitelios animales, hongos, insectos, látex, veneno de himenópteros, entre otros. Este método posee también bloqueo automático de anticuerpos CCD (Determinante de carbohidratos de reactividad cruzada): son **estructuras de azúcares** (carbohidratos) presentes en muchos alérgenos vegetales y de insectos que, aunque pueden activar anticuerpos IgE en algunas personas, **rara vez causan síntomas clínicos reales de alergia**. Sin este bloqueo, el análisis podría indicar que una persona es alérgica a múltiples alérgenos (por ejemplo, alimentos y pólenes) simplemente por tener IgE contra estos carbohidratos comunes, **evitando diagnósticos erróneos** de alergia, **permitiendo decisiones más precisas** sobre dieta, tratamiento e inmunoterapia y aumentando la **especificidad** del test sin perder sensibilidad.

Utiliza una pequeña cantidad de suero (sólo 100 µl) y permite la medición simultánea de IgE total e IgE específica).



Figura 1. Chip. Imagen completa del resultado de ALEX²

Listado de Alérgenos disponibles en:

<https://drive.google.com/drive/folders/1GtllpF5a9Z3YwAwZ51RPS-UnyHv3ftTH>

Algoritmo en el diagnóstico de alergias:

1. Anamnesis: Historial médico detallado

- Identificación de posibles alérgenos y síntomas (respiratorios, cutáneos, gastrointestinales).

- Preguntas clave: ¿Qué insecto ha picado? ¿Qué comió? ¿Cuándo ocurrieron los síntomas?

2. Skin Prick Test:

- Rápido, fácil y económico.
- Limitaciones: piel dañada, uso de antihistamínicos, antecedentes de anafilaxia.

3. Análisis de Sangre (IgE):

- Preciso, rápido y sin interferencia de terapias paralelas.
- Ideal para niños pequeños.

4. Prueba de Provocación:

- "Gold estándar" para alergias alimentarias.
- Costosa, riesgosa y sólo en clínicas especializadas.

Impacto del diagnóstico

DIAGNÓSTICO BASADO EN EXTRACTOS	DIAGNÓSTICO CON ALÉRGENOS MOLECULARES
No hay resolución de reactividades cruzadas.	Imagen del estado de sensibilización real.
No es posible realizar evaluación de riesgos.	Se pueden determinar la co-sensibilización y la sensibilización cruzada.
Mayor riesgo de prescripción de inmunoterapia sin la indicación adecuada.	Mayor precisión en la evaluación de riesgos de reacciones alérgicas graves.
Mayor propensión a resultados falsos negativo (alérgenos faltantes) y falsos positivos (CCD, contaminación)	Mayor precisión en la prescripción de inmunoterapia.
	Recomendaciones dietéticas (p. ej., se tolerará la manzana horneada, no la manzana fresca)

La siguiente tabla resume las fuentes de alérgenos más comunes y su frecuencia en un total de 36 pacientes estudiados hasta el momento, teniendo en cuenta que cada paciente puede ser alérgico a más de un alérgeno.

ALÉRGENO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
PÓLENES	24	66.7%
ÁCAROS	20	55.6%
ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL	28	77.8%
ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL	4	11.1%
INSECTOS Y VENENOS	5	13.9%
MICROORGANISMOS	1	2,8%
EPITELIOS	3	8,3%
OTROS	2	5,6%

Tabla 1. Fuente de alérgenos más comunes estudiados en 36 pacientes

Ejemplo de resultado entregado al paciente:
<https://drive.google.com/drive/folders/1pMlduYLRT5x64tqTeC4yuPCjdGiXfXNM>

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES:

- Los análisis de sangre o pruebas de laboratorio para el estudio de la alergia tratan, por una parte, de confirmar la existencia de una reacción alérgica, cuantificando los mediadores liberados en ésta y evaluando el tipo de anticuerpos; y, por otra, de identificar el alérgeno causante de la reacción, para así poder establecer una relación causa-efecto.
- La positividad de los análisis de sangre o pruebas de laboratorio frente a un alérgeno concreto o frente a una de sus proteínas o componentes, indica la presencia de una sensibilización a dicho alérgeno. Es decir, una propensión, no la certeza, a desarrollar una reacción alérgica.
- Por otro lado, es importante tener también en cuenta que la negatividad de los análisis de sangre o pruebas de laboratorio frente a un alérgeno no excluye la existencia de una sensibilización a dicho alérgeno.

- Es necesario complementar los análisis in vivo (pruebas cutáneas) con las pruebas in vitro, y relacionarlas siempre con los síntomas que presente el paciente. El papel del médico especialista en alergología es fundamental para la indicación e interpretación correcta de todas las pruebas.
- La amplia detección de alérgenos permite un diagnóstico preciso y personalizado, de manera rápida y eficiente, que utiliza una pequeña cantidad de muestra, lo que a su vez permite al paciente acceder a una terapia individualizada, y con ello una mejor calidad de vida.
- Estas técnicas son muy útiles en pacientes que presentan múltiples sensibilizaciones.
- El test utiliza **extractos de alérgenos** cuando los alérgenos moleculares aún no están bien caracterizados o son redundantes debido a un alto grado de reactividad cruzada. Los **alérgenos moleculares** se utilizan cuando los extractos de alérgenos se describen como inestables. **La combinación de ambos garantiza un perfil preciso del estado de sensibilización de un paciente**
- Como desventajas, tiene un costo elevado, no está disponible en todos los laboratorios; y requiere interpretación por alergólogo.

PERSPECTIVAS:

- Es importante mencionar que este material diagnóstico debe ser utilizado bajo la guía de un profesional de la salud especializado en alergias y que los resultados deben ser interpretados con cuidado y en conjunto con otros factores clínicos.
- Si bien se abarca una gran cantidad de alérgenos todavía quedan algunos que no están incluidos. Se podría trabajar e investigar para poder ampliar más sobre alergias a drogas/medicamentos; siendo un campo en continuo avance y crecimiento.
- Los chips ALEX³ están en constante investigación y desarrollo, con mejoras previstas para aumentar su precisión y eficiencia en el diagnóstico de alergias.

BIBLIOGRAFÍA:

Inmunología Celular y Molecular Abbas 10a Edición

Introducción a la Inmunología Humana Fainboim 6ª Edición

El libro de las enfermedades alérgicas. Editores: Dr. José Manuel Zubeldia, Dra. M.ª Luisa Baeza, Dr. Tomás Chivato, Dr. Ignacio Jáuregui y Dr. Carlos J. Senent

Ansotegui, I. J., G. Melioli, G. W. Canonica, L. Caraballo, E. Villa, M. Ebisawa, et al. «IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper». World Allergy Organ J, 13 (2020): 100080.

Hoffmann, H. J., A. F. Santos, C. Mayorga, A. Nopp, B. Eberlein, M. Ferrer, et al. «The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease». Allergy, 70 (2015): 1.393-1.405.

Roberts, G., M. Ollert, R. Aalberse, M. Austin, A. Custovic, A. DunnGalvin, et al. «A new framework for the interpretation of IgE sensitization tests». Allergy, 71 (2016): 1.540-1.551.

Sanz Larruga, M. L., B. García Figueroa, M. Labrador Horrillo, y J. Martínez Quesada. «Técnicas de diagnóstico in vitro». En A. Peláez Hernández e I. J. Dávila González, eds. Tratado de Alergología. 2.ª ed. Madrid: Ergon, 2015, 215-234.

Capacitación MADX24

Teoría Área Inmunología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR Prof. Adj. Dra. Stella Mattaloni.

Agradecimientos: Dr. Gonzalo Chorzepa, Dr. Juan Scapini, Dr. Damián Ingaramo, Bioq. Simón Ingaramo, Bioq. Ayelén Alfano, Bioq. Noelia Gauna, Bioq. Sergio Besteiro, Bioq. Natalia Bressanelli, Dra. Florencia Facciuto, Bioq. Micaela Campora, Bioq. Miguel Taborda, Lic. Ayelén Rodríguez, Bioq. Soledad Maggiori, Micaela Lima, Ivana Temporetti.

Petinari, Lucía¹; Rébola, Alfredo²; Ingaramo, Simón³; Facciuto, Florencia³

¹ Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas-UNR, ² Centro de Referencia de Micología - Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - UNR, ³ Silab Scapini Ingaramo Laboratorios.

INTRODUCCIÓN

¿Se puede predecir la alergia mediante un análisis de sangre?

No se puede predecir la aparición de una alergia mediante una prueba in vitro, las pruebas sanguíneas informan sólo sobre sensibilización y puede ocurrir que esta sensibilización no se traduzca en reacción alérgica.

¿Es indispensable realizar análisis de sangre una vez que se realizan las pruebas cutáneas?

Si bien es cierto que las pruebas cutáneas cuentan con una alta sensibilidad, son económicas y fáciles de realizar, los análisis de sangre en alergología aportan una información adicional que complementa el diagnóstico in vivo en la mayoría de los casos. De hecho, la determinación de la IgE específica presenta una **mayor especificidad** que las pruebas cutáneas.

RESULTADOS

ALEX2 es una prueba múltiple de IgE in vitro basada en ELISA para detectar sensibilizaciones por IgE.

- Evalúa un panel de 295 alérgenos: 117 extractos y 178 alérgenos moleculares que pueden ser recombinantes o naturales.
- Bloqueo automático de anticuerpos CCD.
- Permite la medición simultánea de tIgE e sIgE.
- Utiliza una pequeña cantidad de suero. (sólo 100 µl).
- No interfieren ni antialérgicos ni corticoides.

ALEX
ALLERGY XPLORER



Informe de laboratorio: Resumen sobre las sensibilidades detectadas



ALÉRGENO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
PÓLENES	24	66.7%
ÁCAROS	20	55.6%
ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL	28	77.8%
ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL	4	11.1%
INSECTOS Y VENENOS	5	13.9%
MICROORGANISMOS	1	2.8%
EPITELIOS	3	8.3%
OTROS	2	5.6%



Fuentes de alérgenos más comunes y su frecuencia en un total de 36 pacientes estudiados hasta el momento, teniendo en cuenta que cada paciente puede ser alérgico a más de un alérgeno.

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES

Las *determinaciones realizadas en sangre* para alergias buscan confirmar la reacción alérgica e identificar el alérgeno responsable. Miden anticuerpos y mediadores liberados. Un resultado positivo indica sensibilización (propensión a reaccionar), no certeza de alergia. Un resultado negativo no descarta la alergia.

Puntos clave:

- ❑ Complementar con pruebas cutáneas (in vivo) y relacionar con síntomas.
- ❑ Interpretación por alergólogo.- Útil en múltiples sensibilizaciones.
- ❑ Técnicas con extractos y alérgenos moleculares garantizan precisión.- Desventajas: costo elevado, requiere interpretación especializada.

Perspectivas en Diagnóstico de Alergias

- ❑ *Uso profesional:* Los tests diagnósticos (como ALEX2) deben ser interpretados por un especialista en alergias, considerando síntomas y otros factores clínicos.
- ❑ *Limitaciones:* No cubren todos los alérgenos (ej: drogas/medicamentos). Se necesita investigar más para ampliar cobertura.
- ❑ *Mejoras futuras:* ALEX3 está en desarrollo continuo, buscando mayor precisión y eficiencia en el diagnóstico.



UNR Universidad
Nacional de Rosario



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

Caso clínico: Infección por Parvovirus B19 en paciente con Esferocitosis Hereditaria

Alumnas: Malena Ferrari, Ma. Sol Poldoni

Área de rotación: Virología / Centro de Tecnología en Salud Pública (CTSP)

Tutores: Dra. Ana Laura Cavatorta (Profesora Área Virología)
Luciano Civerchia (Bioquímico CTSP, Jefe de Trabajos Prácticos Área Virología)

Consultora: María Florencia Orlandi (Bioquímica CTSP, Jefe de Trabajos Prácticos Área Inmunología)

Año 2025

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Paciente de 33 años, con antecedentes de esferocitosis hereditaria, cursó internación el día 21 de octubre de 2024 por aplasia medular de etiología en estudio, con sospecha de ser secundaria a reactivación de Parvovirus B19 por lo que realizó infusión de gammaglobulina y terapia con G-SCF con buena respuesta. Al no poder descartar etiología autoinmune realizó tratamiento inmunosupresor transitorio con ciclosporina, suspendido ante evidencia de toxicidad renal y hepática, y mejoría de cuadro clínico. Además fue evaluado por Servicio de Cirugía General para realización de esplenectomía programada como tratamiento contra la esferocitosis hereditaria.

Presentó como complicación neutropenia febril sin foco claro, por lo que completó tratamiento antibiótico empírico con vancomicina y meropenem por 10 días. Posteriormente complicó con síndrome febril en probable relación a reacción adversa a vacunación, aunque por no poder descartar etiología infecciosa, completó nuevo tratamiento antibiótico con vancomicina y meropenem por 7 días.

El día 22 de noviembre, ante evolución clínica y analítica favorable, se decide otorgar alta hospitalaria continuando control ambulatorio. Se dictan pautas de alarma.

Antecedentes personales

- Esferocitosis hereditaria (línea materna)
- Esplenomegalia
- Hábitos: uso diario de vapeo

Internaciones previas

- Internación en 2019 por cuadro de crisis hemolítica en contexto de parvovirus en Paraguay con requerimiento transfusional.
- Internación en el mes de septiembre en Paraguay por un cuadro de pancitopenia, neutropenia febril severa y Aspergilosis (diagnóstico por PCR), por lo que realizó tratamiento con Anfotericina B liposomal + ceftazidima/avibactam + meropenem + vancomicina.
- IgG+ para EBV y **Parvovirus B19 con IgM negativa** para ambas. VDRL/VIH negativos. PCR para viruela símica negativa. Requirió transfusión de unidades de GR y plaquetas.

Exámenes complementarios previos

Punción de médula ósea (PAMO): médula ósea con gran hiperplasia de la serie roja, en todos sus estadios madurativos. Ausencia de serie granulocítica. Médula compatible con Agranulocitosis severa. PCR negativa para CMV, EBV, Parvovirus, Trypanosoma cruzi, Leishmania, micobacterias atípicas y TBC.

Biopsia MO: MO hiper celular, 75% con aplasia de la serie granulocítica. Marcada hiperplasia de la serie roja y megacariocítica en número normal/alto y con atipia en el 10%.

Ecografía abdominal completa: notable esplenomegalia homogénea.

TAC de abdomen y pelvis: hepatoesplenomegalia. Adenopatías retroperitoneales.

Laboratorio

Laboratorio	21/10/24	31/10/24	9/11/24	18/11/24
Glóbulos rojos (M/mm³)	3,26	2,41	2,30	2,92
Hemoglobina (g/dL)	9,9	7,3	6,9	9
Hematocrito (%)	30	21	20	26
Glóbulos blancos (/mm³)	950	970	1050	1390
Plaquetas (/mm³)	124.000	186.000	88.000	-
Glicemia (mg/dL)	88	98	-	108
Urea (mg/dL)	51	34	-	64
Creatinina (mg/dL)	1,10	1,23	-	1,65
Bilirrubina total (mg/dL)	4,8	2,6	-	5,86
TGO (UI/L)	49	163	-	-
TGP (UI/L)	83	32	-	-
FAL (UI/L)	180	30	-	-
GGT (UI/L)	192	137	-	-

Tabla 1: datos de laboratorio obtenidos durante la internación del paciente.

Laboratorio inmunológico: FAN negativo, ANCA negativo, FR 6,1.

Serologías virales: HIV, VHB, VHC, VDRL negativos.

Laboratorio hematológico: Ferremia 226, TIBC 330, % sat: 795, ferritina 2554.

Serologías virales: CMV, EBV, Parvovirus: IgG reactiva, IgM no reactiva

PCR virales en médula ósea: EBV, CMV, HSV I, HSV II, HSV VI, Adenovirus: no detectable.

Parvovirus B19: detectable.

MARCO TEÓRICO

Parvovirus B19

El parvovirus B19 (PV-B19) pertenece a la familia *Parvoviridae*, género *Erythroparvovirus*, denominado así por el especial tropismo por los progenitores de la serie roja de la médula ósea. Comprende un virus DNA simple hebra con un genoma de aproximadamente 5000 nucleótidos, sin envoltura y con cápside de simetría icosaédrica que oscila entre 20 y 26 nm de diámetro. El genoma del PV-B19 codifica tres proteínas principales: una no estructural (NS1), que interviene en la replicación viral y tiene propiedades tóxicas y proapoptóticas, y dos estructurales de la cápside (VP1 y VP2). Estas últimas son la diana de los **anticuerpos neutralizantes** esenciales para el control de la infección y se utilizan en las pruebas de diagnóstico serológico

Epidemiología

La infección por PV-B19 tiene una distribución mundial y su presentación puede ser tanto epidémica como esporádica. Son frecuentes los brotes en escuelas, generalmente comenzando a finales del invierno o primavera y prolongándose durante el verano. Se transmite sobre todo de forma directa por **vía respiratoria**, aunque no causa síntomas respiratorios. Puede estimarse que la seroprevalencia aumenta de forma constante con la edad: es del 2-20% antes de los 5 años, del 15-40% entre los 5-18 años y del 40-80% en la población adulta. La inmunidad adquirida tras la primoinfección es neutralizante, no se han descrito casos de reinfección (salvo en caso de inmunosupresión grave).

El PV-B19 también puede transmitirse al feto cuando la madre adquiere el virus durante el embarazo, con **paso transplacentario por vía hematogena** en el momento de la viremia materna. En caso de primoinfección en una gestante no inmune, el paso transplacentario del virus se produce en el 25-50% de los casos y la incidencia de pérdida fetal se estima entre el 1,7-12,5%, con variaciones significativas en función del estadio del embarazo y mayor gravedad al inicio del mismo, antes de las 22 semanas de amenorrea.

Por último, otro modo de transmisión es por **vía sanguínea**. Debido a la elevada viremia observada en la fase inicial de la infección y a la persistencia de la viremia, incluso en pacientes inmunocompetentes, el PV-B19 puede estar presente en donaciones de sangre que no se analizan de forma sistemática mediante análisis del genoma viral. El riesgo, estimado entre el 0,006-1,3%, puede ser mayor en caso de epidemia. Por lo tanto, el virus puede estar potencialmente presente en los productos sanguíneos lábiles y, debido a su resistencia a los procedimientos fisicoquímicos (filtración, disolventes-detergentes) utilizados en transfusión para que las donaciones sean seguras, también se encuentra con mucha frecuencia en los concentrados de plasma, en particular en los factores de coagulación administrados a los hemofílicos. El riesgo de transmisión depende de la carga viral y del tipo de hemoderivado. Los productos sanguíneos sólo pueden transmitir la infección si se administran a una persona no inmune, que por lo general también contienen anticuerpos anti-PV-B19 que minimizan el riesgo y que la infección sólo será grave en algunos contextos particulares. Aunque es poco frecuente, la transmisión del PV-B19 durante el trasplante de médula ósea o de órganos también es posible.

El máximo periodo de transmisión corresponde al pico de viremia antes de la fase de erupción, que es de 5-10 días tras la exposición en un paciente a menudo asintomático. La infección presenta un patrón cíclico, de forma que los episodios epidémicos suelen repetirse cada cuatro o cinco años. La mayoría de las primoinfecciones ocurren entre los 5-15 años (70%), siendo menos frecuentes en niños menores (10%) y adultos (20%). Las infecciones son, en su mayoría, asintomáticas. En contagios demostrados serológicamente, sólo el 35% presentó manifestaciones clínicas. Es importante conocer que, cuando están presentes las manifestaciones clínicas, ya no existe riesgo de contagio. Por ello, el aislamiento respiratorio sólo está recomendado en pacientes con altas tasas de viremia, como los afectados de crisis aplásica transitoria (CAT) o HIV positivos con anemia crónica; las embarazadas y otros enfermos inmunodeprimidos no deben estar en contacto con ellos.

Patogenia

Tras la infección, el PV-B19 alcanza el torrente sanguíneo y después la médula ósea en un plazo de 6-8 días.

El ciclo viral completo con producción de partículas virales infecciosas tiene lugar en el núcleo de las células precursoras eritroides BFU-E (unidades formadoras de erupción de eritroides) y CFU-E (unidad formadora de colonias de células eritroides) de la médula ósea. La infección es **lítica**, con destrucción total o parcial de los progenitores eritroides, en particular por un proceso apoptótico. Si se analiza un frotis de médula ósea, se puede observar una ausencia virtual de células de la serie eritroide asociada a la presencia de proeritroblastos gigantes. Esto es el resultado de la **citotoxicidad** sobre las células precursoras eritroides; en efecto, tras la unión de la cápside viral con el antígeno P de las células eritroides, se producen grandes inclusiones intranucleares, con condensación cromática y vacuolización citoplasmática que indican apoptosis.

La viremia es significativa (hasta 10^3 partículas/mL) y transitoria (por lo general unos pocos días), pero luego puede detectarse en niveles más bajos durante varias semanas a varios meses mediante PCR en tiempo real (qPCR) de alta sensibilidad. La intensidad de esta viremia no se correlaciona con ningún síntoma; de hecho, en esta fase, la infección viral suele ser asintomática, pero el paciente es contagioso, lo que justifica el aislamiento para evitar la transmisión, especialmente nosocomial.

La interrupción de la eritropoyesis no suele tener efectos clínicos en las personas sanas. Esto se debe a dos causas:

- La lisis de los progenitores eritroides es temporal, hasta que aparece la respuesta inmunitaria al cabo de unos 12 días, neutralizando la infección.
- La vida útil de los eritrocitos que circulan por el organismo (120 días) compensa esta interrupción temporal de la producción de nuevos eritrocitos, ya que la tasa de recambio de eritrocitos es de alrededor del 1% diario.

Desde el punto de vista del laboratorio, en este estadio de la infección sólo se detecta reticulopenia, sin anemia. Sin embargo, la lisis de los progenitores eritroides tiene consecuencias en algunos pacientes.

Esta primera fase de la infección, asociada a la replicación viral (fase de invasión), va seguida de una segunda fase (fase eruptiva) caracterizada por la producción de anticuerpos neutralizantes IgM y después IgG. Los anticuerpos IgM pueden detectarse durante semanas o meses, mientras que los anticuerpos IgG persisten durante toda la vida y protegen contra la reinfección. Los epítomos neutralizantes se localizan en VP2 (epítomos conformacionales) y en la parte única de VP1 (epítomos lineales que inducen una fuerte respuesta neutralizante). La respuesta inmunitaria es sinónimo del inicio de la disminución de la viremia y permite la reanudación progresiva de la multiplicación de nuevos progenitores eritroides y la reanudación de la eritropoyesis. El riesgo de anemia desaparece, pero es en esta fase cuando aparecen los signos clínicos más frecuentes. El depósito de complejos inmunitarios antígeno-anticuerpo en las células endoteliales o sinoviales es responsable de las manifestaciones clínicas de erupción cutánea o artralgia, respectivamente.

En caso de inmunodeficiencia, el control de la infección por la respuesta inmunitaria es incompleto y persiste la infección. El PV-B19 puede permanecer en la médula, es detectable en la sangre periférica, y la infección y destrucción crónica de los progenitores eritroides conducen a una anemia por aplasia.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la infección por PV-B19 son numerosas, variadas y potencialmente graves en determinados grupos de riesgo (pacientes con hemólisis crónica, inmunodeprimidos, fetos). Están vinculadas a la infección replicativa y a la muerte de las células diana (afectación de la serie eritrocítica) o a la respuesta inmunitaria (megaloeritema). Dependerán de la fase de la infección y del contexto hematológico e inmunitario del huésped infectado.

Infección en inmunocompetentes

La mayoría de las personas con pruebas serológicas de infección previa no recuerdan haber tenido ninguno de los síntomas específicos asociados clásicamente al PV-B19. Los niños presentan principalmente un eritema cutáneo, mientras que los síntomas articulares son la manifestación más frecuente en los adultos (en particular en las mujeres). La manifestación de la infección puede darse de 3 maneras distintas:

- Fase prodrómica: alrededor del 25% de los pacientes no presentan ningún síntoma durante la primoinfección. Los síntomas inespecíficos, de tipo síndrome pseudogripal (fiebre, mialgias, cefaleas), pueden presentarse al mismo tiempo que la fase virémica y la afectación hematológica. Puede detectarse reticulopenia transitoria, a menudo de forma incidental. Rara vez se observa anemia. La multiplicación viral es breve y rápidamente controlada por la respuesta inmunitaria.
- Erupciones cutáneas: la infección es la causa del megaloeritema epidémico o eritema infeccioso, también conocido como la “quinta enfermedad de la infancia”. Esta manifestación clínica es la más frecuente en niños, por lo general de entre 5-14 años, y se produce alrededor de 2 semanas después del contagio. Se trata de un exantema benigno caracterizado por una erupción maculopapulosa que comienza en las mejillas, para extenderse poco a poco al tronco y los miembros (manchas rosadas de aspecto cartográfico), y puede ir acompañada de febrícula y nasofaringitis.
- Manifestaciones reumatológicas: las artralgias inflamatorias parecen deberse a un mecanismo inmunoalérgico. La artralgia se presenta en alrededor del 10% de los niños y es más frecuente en los adultos (30%), con un claro predominio de las mujeres. Se trata de poliartralgias de aparición brusca, por lo general intensas, de localización bilateral y simétrica, que comienzan en las extremidades antes de extenderse a las grandes articulaciones. Las manifestaciones articulares se asocian clásicamente al depósito de complejos inmunitarios en las articulaciones, sin erosión articular.

Infección en pacientes con una anomalía constitucional de los eritrocitos

Los eritrocitos de los pacientes con anomalías de la hemoglobina (drepanocitosis, talasemia), de las proteínas de la membrana de los eritrocitos (**esferocitosis hereditaria** o enfermedad de Minkowski-Chauffard) o del metabolismo de los eritrocitos (deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa) tienen una semivida acortada por la hemólisis periférica. Estos pacientes sufren una anemia regenerativa crónica de origen periférico, globalmente compensada por una eritropoyesis significativa. En caso de infección por el virus, la

destrucción masiva de los progenitores eritroides alterará este equilibrio y la hemólisis periférica ya no se compensará por el cese de la eritropoyesis. En este caso el PV-B19 puede entonces ser responsable de un episodio de **eritroblastopenia** caracterizada por una anemia arregenerativa profunda y brusca acompañada de signos de palidez extrema, dificultad respiratoria, fatiga y, si se realiza el mielograma, una eritroblastopenia de la médula ósea.

Las formas atenuadas son posibles, al igual que las complicaciones graves como el infarto, el síndrome torácico agudo y el secuestro esplénico en pacientes con drepanocitosis.

El episodio de eritroblastopenia es transitorio; el paciente, por lo general inmunocompetente, desarrollará una respuesta inmunitaria que le permitirá eliminar el virus. Sin embargo, la anemia profunda, repentina y a menudo mal tolerada suele requerir transfusiones de concentrado de eritrocitos para superar esta fase transitoria crítica hasta que se reanuda la eritropoyesis.

Infección en pacientes inmunodeprimidos

En caso de inmunodeficiencia, que afecta en particular a la producción de anticuerpos neutralizantes, el PV-B19 no puede eliminarse tras la primoinfección, la destrucción de los precursores eritroides persiste y la anemia se instaura durante mucho tiempo. En cambio, los síntomas típicos de la infección (erupción cutánea, artralgias) suelen estar ausentes (ya que estos síntomas son inmunomediados y su ausencia probablemente esté relacionada con la insuficiencia de la respuesta inmunitaria) y el diagnóstico de infección por B19 no es evidente. La anemia crónica asociada a la infección se observa en todos los casos de inmunosupresión, como trasplantes de células madre hematopoyéticas o de órganos sólidos, quimioterapia, bioterapia o tratamiento inmunosupresor, HIV positivos, entre otros. Esta anemia se acompaña de una eritroblastopenia más o menos profunda, incluso de una aplasia de la médula ósea, y de una viremia persistente.

Diagnóstico

El diagnóstico virológico (mediante técnicas serológicas y/o moleculares) de la infección se utiliza especialmente en las formas graves o complicadas. Se basa sobre todo en la detección de marcadores virales (diagnóstico directo: detección del genoma viral por qPCR); en particular durante la primera fase de la infección (viremia) o la lesión tisular, y en la detección de anticuerpos IgM e IgG específicos, especialmente durante las manifestaciones asociadas a la segunda fase de la infección.

En los **pacientes inmunocompetentes**, el diagnóstico de la infección por PV-B19 se basa ante todo en la serología, con la detección de IgM y luego de IgG en el momento de la erupción o la artralgia. La IgM es detectable en la sangre a partir de 2 semanas después de la infección y durante 2-3 meses. La IgG a veces es detectable días después de la IgM y persiste durante toda la vida. La presencia de IgG aislada indica una inmunidad protectora de larga data.

En caso de episodio de eritroblastopenia aguda o de anemia crónica en un **paciente inmunodeprimido**, la serología puede ser negativa, siendo la búsqueda del ADN del virus en la sangre la técnica de elección, por ende, la detección de la viremia y su seguimiento mediante la medición de la carga viral permiten el diagnóstico.

El método molecular puede efectuarse en médula ósea en determinadas situaciones, teniendo en cuenta que el ADN del virus puede detectarse en los órganos (médula, hígado,

piel, corazón, etc.) de personas sanas, años después de la infección inicial, sin que haya replicación ni viremia asociada. Sólo la detección de ADN viral en la sangre indica una infección activa replicativa.

En anatomía patológica, la observación por un citólogo de proeritroblastos gigantes característicos en un frotis de médula ósea es patognomónica de infección por B19.

Las técnicas de inmunohistoquímica y de hibridación *in situ* también pueden ser útiles en la búsqueda de la imputación del B19 en determinadas enfermedades (miocarditis, por ejemplo).

Tratamiento y profilaxis

En el eritema infeccioso no es necesario el tratamiento. Sólo en algunas ocasiones se recurre a medicación sintomática y, únicamente en las artralgias, se recomienda el uso de antiinflamatorios no esteroideos.

La transfusión sanguínea sí puede estar indicada en casos graves de CAT y está en discusión la administración de inmunoglobulinas intravenosas (IV) a estos pacientes con objeto de reducir el tiempo de aplasia. El tratamiento de la infección persistente en los inmunodeprimidos se basa en la administración de inmunoglobulinas IV a dosis elevadas. Con esto se consigue la desaparición de la viremia aunque, en los pacientes HIV positivos, no es de extrañar que se requiera un segundo ciclo o una administración mantenida de las inmunoglobulinas para tratar las frecuentes recaídas.

Tampoco es infrecuente la aparición de artralgias o exantema tras el tratamiento, lo que corrobora que estas manifestaciones están mediadas por el sistema inmune.

Actualmente, y gracias a las técnicas de ingeniería genética, disponemos de vacunas que se hallan en fase de ensayo humano.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Se trata de un paciente joven con esferocitosis hereditaria, una enfermedad hemolítica congénita que cursa con anemia crónica compensada, esplenomegalia y episodios de crisis hemolíticas. Posteriormente, su evolución clínica se complejiza por la aparición de episodios de aplasia medular grave (parámetros hematológicos disminuidos: tabla 1), agranulocitosis severa y múltiples infecciones oportunistas, lo cual desvía el curso clínico habitual de la esferocitosis, sugiriendo la participación de procesos inmunológicos, infecciosos y tóxicos.

La infección por PV-B19 constituye un eje central en el análisis del caso ya que, como se ha descrito previamente, este virus tiene tropismo por precursores eritroides y puede desencadenar crisis aplásicas en individuos con hemólisis crónica. En este paciente, la combinación del resultado detectable de la qPCR en médula ósea, junto con IgG reactiva e IgM no reactiva, plantea la posibilidad de que este cuadro corresponda a un caso de reactivación de PV-B19. Aunque es un evento raro y poco documentado en la literatura, el perfil serológico del paciente junto con el contexto clínico hacen necesario considerarla dentro de las hipótesis diagnósticas.

Otro de los escenarios presentados en este caso es la discordancia obtenida entre los métodos directos e indirectos. Si bien la presencia del virus detectado mediante PCR en médula ósea confirma una infección o persistencia viral, la ausencia de IgM y el patrón hematológico atípico sugieren que no se trata de una crisis aplásica clásica.

Esta situación destaca la importancia de utilizar métodos moleculares en el estudio de enfermedades infecciosas relacionadas a pacientes con anomalías hematológicas preexistentes dada su alta sensibilidad y especificidad.

Además, la afectación de la línea granulocítica y la evolución favorable tras el cese de inmunosupresión y terapia con G-CSF, apunta más a una etiología multifactorial que a una infección viral activa como causa primaria del cuadro.

Desde el punto de vista terapéutico, se adoptaron medidas adecuadas con soporte transfusional, inmunoglobulina y profilaxis antibiótica. Esto resalta la necesidad, en estos casos con afecciones superpuestas, de llevar a cabo un enfoque multidisciplinario que incluya infectología, hematología, inmunología, entre otros. Asimismo, subraya el valor del seguimiento ambulatorio, la educación sobre pautas de alarma y la vigilancia de las posibles complicaciones.

PERSPECTIVAS

Este caso pone en evidencia la necesidad de mantener una mirada crítica ante hallazgos de laboratorio que no se correlacionan plenamente con la clínica, especialmente en pacientes con enfermedades hematológicas de base. Ante situaciones atípicas, como la observada en este paciente, es fundamental profundizar el estudio diagnóstico mediante herramientas complementarias que permitan esclarecer el origen del cuadro.

Entre las acciones que podrían haberse considerado, se incluyen:

- **Repetición de estudios serológicos (IgG e IgM)** utilizando una nueva muestra o una técnica distinta, con el objetivo de confirmar el perfil inmunológico y descartar resultados falsos.
- **Nueva PCR para PV-B19**, a partir de una segunda muestra, con el fin de verificar el hallazgo inicial y reducir la probabilidad de un falso positivo.
- **Estudios ampliados de médula ósea**, incluyendo citometría de flujo e inmunofenotipificación, para descartar enfermedades hematológicas como síndromes mielodisplásicos o trastornos linfoproliferativos.
- **Dosificación de inmunoglobulinas séricas y subpoblaciones linfocitarias**, para evaluar compromiso inmunológico, ya sea primario o secundario a tratamientos previos.
- **Estudios toxicológicos**, considerando antecedentes de exposición a sustancias potencialmente nocivas (como el uso prolongado de *vapeo*), que podrían haber contribuido a la aparición de aplasia medular y agranulocitosis.

Finalmente, este caso refuerza la importancia de contar con protocolos diagnósticos adaptados a contextos clínicos complejos, así como de fortalecer la formación continua de los equipos de salud para la detección, interpretación y manejo de fenómenos no convencionales o infrecuentes. El trabajo interdisciplinario, el uso de tecnologías diagnósticas de alta sensibilidad y una actitud clínica reflexiva son pilares fundamentales para mejorar la seguridad y eficacia en la atención de pacientes con enfermedades hematológicas y comorbilidades.

Bibliografía

García Tapia, A. M., Lozano Domínguez, M. C., & Fernández Gutiérrez del Álamo, C. (2006). *Infección por Erythrovirus B19 (Parvovirus B19)*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 24(Supl. 1), 24–29.

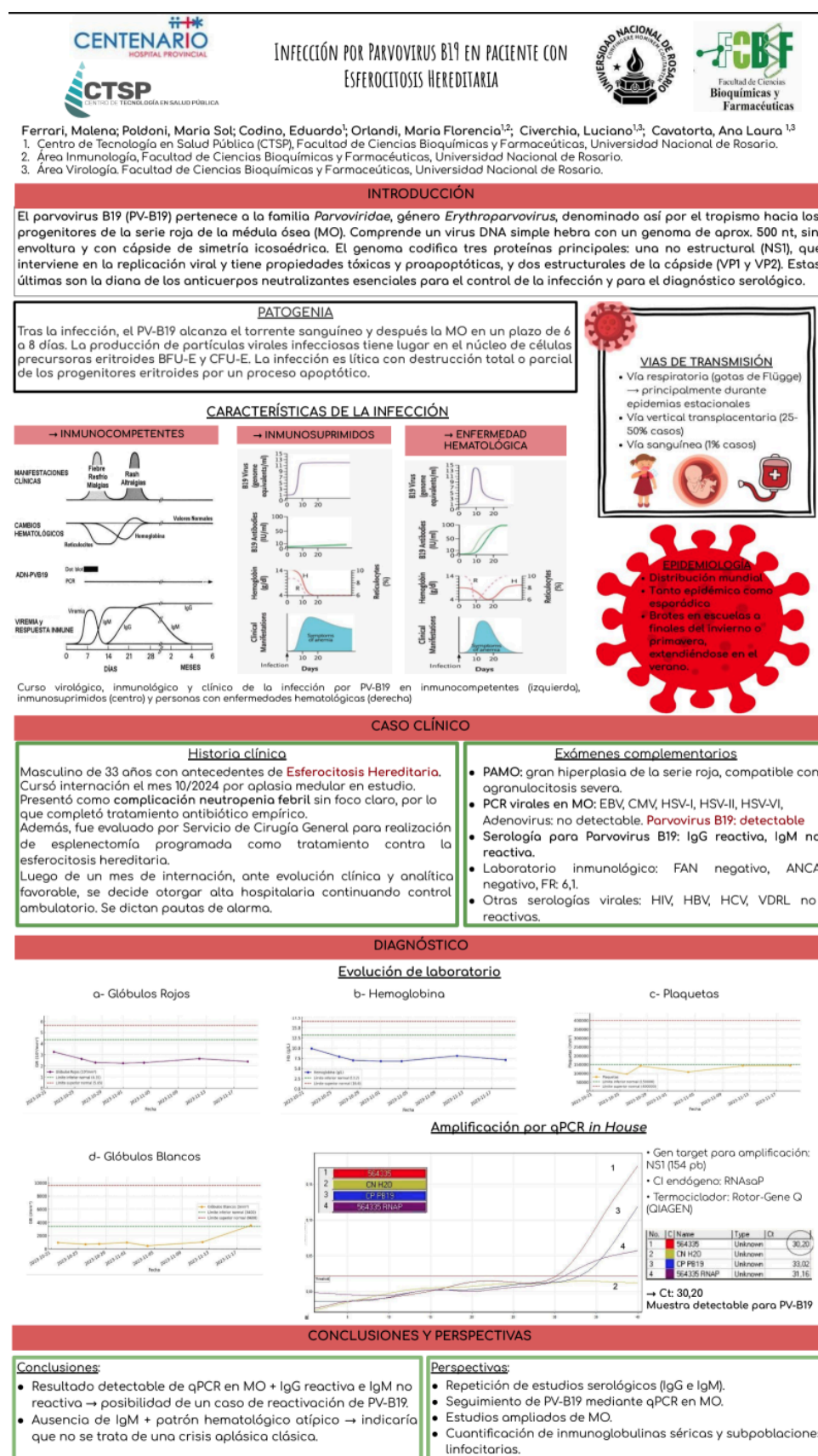
[https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(06\)73891-2](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(06)73891-2)

Pavón, M. M., & Blanco, A. I. (2017). *Infección por parvovirus B19: a propósito de un caso clínico y revisión bibliográfica*. Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Fundación Alcorcón. [https://doi.org/10.1016/S1245-1789\(23\)48776-8](https://doi.org/10.1016/S1245-1789(23)48776-8)

Material aportado por la cátedra durante el cursado de virología. Diagnóstico en Virología. Capítulo 7. “Eruptivas Virales”.

Lai, P. Y., Vu, A., Sarva, S. T., Jayaraman, G., & Kesavan, R. (2021). *Parvovirus reactivation in COVID-19*. *Cureus*, 13(9), e17796. <https://doi.org/10.7759/cureus.17796>

Leelaviwat, N., Armin, S., Mekraksakit, P., & Nugent, K. (2023). *Reactivation of parvovirus B19 infection: An uncommon trigger of macrophage activation syndrome in adult-onset Still's disease*. *Cureus*, 15(4), e37231. <https://doi.org/10.7759/cureus.37231>



Universidad Nacional de Rosario

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

Paciente en situación de calle con Tuberculosis, su
tratamiento y complicaciones.

Autora: Karina Ayelén Alegre

Tutora: Bárbara Balbi

Institución de rotación: Hospital Dr. Roque Sáenz Peña.

Presentación del caso clínico

Paciente masculino de 53 años en situación socio-habitacional compleja ingresa a guardia general del Hospital Dr. Roque Saenz Peña el día 27/04 por cuadro de 72hs de evolución caracterizado por tos asociada a fiebre y disnea progresiva. Refiere dolor lumbar derecho, disuria, náuseas, vómitos y decaimiento del estado general.

Como antecedentes relevantes: ex-etilista de jerarquía, ex-tabaquista (36 paq/año, abandonó 2 meses atrás), consumo de cocaína y marihuana, ileostomía y colostomía secundarias a herida por arma de fuego. Medicación: clonazepam y omeprazol. Niega alergias medicamentosas. Desconoce antecedentes familiares. Dos meses atrás había sido internado en el Hospital de Emergencias Clemente Álvarez (HECA) por presentar injuria renal aguda (IRA) secundaria a gastroenteritis aguda (GEA).

El examen físico del paciente al ingreso describe: TA 110/60, FC 67 l/m, FR 18 rpm, SAT 99% (0.21%), TEMP 36.5°C. Delgado, regular estado general, mucosas semihúmedas, lúcido, vigil, orientado globalmente. Sin foco neurológico motor ni sensitivo, sin signos meníngeos. Comprende y ejecuta órdenes simples. Ritmo cardíaco regular. Buena mecánica ventilatoria. Murmullo vesicular disminuido, roncus bilaterales aislados a predominio de base derecha. Moviliza secreciones con la tos. Abdomen blando, depresible, indoloro, sin defensa ni descompresión. RHA +. Ileostomía y colostomía permeables y funcionantes, con débito de materia fecal semi-líquida. Miembros inferiores normoperfundidos sin edemas.

Luego de esta evaluación se decide su internación y seguimiento mediante análisis de laboratorio con orina completa, urocultivo, coprocultivo, cultivo de esputo para gérmenes comunes, hemocultivo x2, electrocardiograma y radiografía de tórax.

Días después el paciente presenta tos productiva con expectoración blanquecina y se solicita baciloscopía de esputo seriado para bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) remitiendo al laboratorio 2 muestras. El examen directo arrojó un resultado positivo a infección por *Mycobacterium Tuberculosis*, causante de Tuberculosis (TB), por lo que se aísla al paciente y se comienza un tratamiento con antibacilares cuádruple asociación de rifampicina, isoniazida, pirazinamida y etambutol vía oral, 3 comprimidos al día.

Luego de unos días el paciente refirió contar con residencia, por lo que se interconsulta con trabajo social y es dado de alta el 12/05 bajo indicaciones médicas para la continuación del tratamiento junto a pautas de alarma como falta de aire, palpitaciones, dolor abdominal intenso. Sin embargo, el 15/05 volvió a ser internado bajo observación por presentar indicios de falla renal aguda debido a la falta de hidratación y encontrarse nuevamente en una situación socio-habitacional compleja.

Marco teórico

TUBERCULOSIS

Se trata de una enfermedad infectocontagiosa causada por el bacilo *Mycobacterium Tuberculosis* que usualmente afecta pulmones (tuberculosis pulmonar), aunque puede afectar cualquier otro órgano (tuberculosis extrapulmonar) como sucede en la TB pleural, ganglionar, laríngea, abdominal, genitourinaria, osteoarticular, meníngea, cutánea, etc; siendo la meningitis tuberculosa la de mayor gravedad. Si dos o más órganos se encuentran afectados se trata de una TB diseminada. En pacientes sanos la enfermedad suele ser asintomática dado que el sistema inmune es capaz de neutralizar estos bacilos y evitar su diseminación, pero frente a una inmunosupresión, el patógeno encuentra una oportunidad para desarrollarse y generar el cuadro clínico. Según la OMS, tras una infección hay mayores probabilidades de desarrollar la enfermedad los siguientes 2 años, luego de lo cual el riesgo de desarrollar la enfermedad disminuye e incluso, puede ser erradicada por el mismo sistema inmune. Sin embargo, estudios indicaron que alrededor del 5-10% de las personas infectadas con TB desarrollarán la enfermedad en algún momento en sus vidas, aumentando las probabilidades en pacientes con VIH y personas afectadas por desnutrición, diabetes, consumo de tabaco y/o alcohol. Los principales síntomas presentados por los pacientes con tuberculosis activa son tos (al principio suele ser seca, luego se transforma en tos productiva, con expectoración, mucopurulenta y puede ser hemoptoica), fiebre, debilidad, sudoración nocturna. También suelen referir dolores torácicos, pérdida de peso, disnea, astenia, entre otros. La tos, además de ser el síntoma característico, es la principal causante de los contagios, dado que brinda la posibilidad a la bacteria de diseminarse en el aire e infectar a otros individuos. [1; 2]

Si bien existe una única vacuna (BCG: Bacilo de Calmette-Guérin) autorizada para la prevención de TB que en nuestro país se aplica a todos los bebés recién nacidos, esta solo previene los casos más graves, como la meningitis tuberculosa o la tuberculosis diseminada. Aun así, en la actualidad, la enfermedad afecta enormemente a la población mundial, predominando en adultos, más hombres que mujeres. Dado su gran potencial epidemiológico, su alta tasa de mortalidad y su continuo aumento de casos positivos año tras año, es de gran relevancia para organizaciones reguladoras de los sistemas de salud provinciales, nacionales e internacionales para su correcto monitoreo, control y erradicación.

Cabe destacar que, en los años 2014 y 2015, frente a los grandes aumentos de casos positivos de TB, los Estados miembros de la OMS y la ONU establecieron estrategias y metas a fin de lograr reducir significativamente la incidencia, la mortalidad y los costos que enfrentan los pacientes que adquieren esta enfermedad con el fin de erradicar por completo para el año 2030 la epidemia global de TB. Aun así, según el reporte global de tuberculosis brindado por la OMS en 2023, esta enfermedad causó en el año 2022 casi el doble de muertes en comparación con HIV/SIDA y fue la segunda causa mundial de muertes luego del COVID-19.[2]

Diagnóstico.

El estándar de referencia para el diagnóstico de Tuberculosis es el cultivo del bacilo en medios sólidos como Löwenstein-Jensen o Stonebrink que sirven para la posterior identificación de género y especie mediante pruebas bioquímicas y/o moleculares, y permiten determinar luego la resistencia a fármacos. También existen medios líquidos automatizados en sistemas como MGIT 960 o MGIT 320, pero son más utilizados en laboratorios de mayor complejidad. El cultivo se acompaña del examen directo (ED) del extendido de esputo seriado con la tinción de Ziehl Neelsen, el cual permite una pronta y fehaciente identificación del agente causante: *Complejo Mycobacterium Tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis var BCG*, *M. canetti*, *M. africanum*, *M. pinnipeda*, *M. microti*, *M. mungi*). El mismo arroja resultados en el mismo día y permite obtener un pronto diagnóstico, a diferencia del cultivo que puede tardar entre 4-8 semanas hasta visualizarse desarrollo, aunque este último presenta mayor sensibilidad en comparación al extendido donde pueden no visualizarse los bacilos. Además, el ED puede realizarse sobre muestras de esputo inducido, lavado gástrico, lavado bronquial y broncoalveolar, líquidos de punción,

material purulento y homogeneizados de tejidos. Consiste en la tinción del frotis con Fucsina, calentamiento de la muestra a la llama hasta ver vapores blancos logrando que el colorante penetre la pared de las bacterias ácido-alcohol resistentes, decoloración con ácido-alcohol y posterior tinción con azul de metileno como contracolorante. Una vez realizada y secada la tinción se pueden observar con aceite de inmersión en microscopio óptico a 100X los bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) de *M. tuberculosis* teñidos de rosa en un fondo azul correspondiente al resto del material. Tras la observación del frotis el resultado se informa de manera semicuantitativa: negativo si no se encuentran BAAR en 100 campos observados; positivo (+): menos de un bacilo por campo en 100 campos observados; positivo (++) : de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos observados, y positivo (+++) : más de 10 BAAR por campo en 20 campos observados.

Se aconseja realizar como mínimo dos baciloscopías, una de cada esputo (esputo seriado: muestras consecutivas en días seguidos, más representativo) o dos de una sola muestra de esputo. Debe tenerse en cuenta que un resultado con bajo recuento de BAAR (1-10 en 100 campos) también debe informarse a fin de que el médico pueda evaluarlo en el contexto clínico del paciente.

Para pacientes adultos o pediátricos con alta sospecha clínica y epidemiológica de infección por TB y con: riesgo de multirresistencia (por tratamiento previo incompleto o ausente respuesta), sospecha de TB meníngea o extrapulmonar, diagnóstico de VIH o embarazo en curso, directamente se solicita la realización de la prueba molecular para la detección rápida del Complejo *M. Tuberculosis* y resistencia a rifampicina (GeneXpert). Ésta arroja resultados en 1-2 días hábiles partiendo de las mismas muestras utilizadas para cultivo y baciloscopía.

En cuanto al diagnóstico por imágenes se emplea la radiografía de tórax de frente y perfil. Las observaciones radiológicas dependen de la edad del paciente, si se encuentra inmunosuprimido, si tuvo TB previamente o no. Las observaciones son habitualmente linfadenopatías hiliares en adultos con HIV y hasta un 96% en niños, frecuentemente unilaterales del lado derecho; consolidación u opacidad parenquimatosa comúnmente en lóbulos inferiores del pulmón derecho; y finalmente opacidades parenquimatosas del intersticio, siendo la forma miliar la más común, usualmente en niños e inmunocomprometidos. Puede haber hallazgos como consolidación del espacio aéreo

pobrememente definida al comienzo de la enfermedad, en segmentos apicales y posteriores de los lóbulos superiores, que se localizan en cualquier campo una vez avanzada la enfermedad.[1]

Tratamiento antituberculoso y efectos secundarios.

Para el tratamiento anti-TB la OMS clasifica los fármacos en: Drogas de primera línea orales: isoniazida (H), rifampicina (R), etambutol (E), pirazinamida (Z) y rifabutina (no disponible en Argentina). Inyectables: kanamicina (Km), amikacina (Am), capreomicina (Cm) y estreptomicina (Sm). Fluoroquinolonas: levofloxacina (Lfx), moxifloxacina (Mfx), gatifloxacina (Gfx). De segunda línea orales: cicloserina/terizidona (Cs/Tz), etionamida/protionamida (Eto/Pt), ácido p-amino salicílico (PAS). Miscelánea de fármacos con distintos niveles de actividad sobre *M. tuberculosis*: clofazimina, linezolid, amoxicilina-clavulánico, imipenem/cilastatina, isoniácida en altas dosis (15-20mg/kg/día), tioacetazona, claritromicina.

Una vez brindado un diagnóstico de infección por el bacilo *M. tuberculosis* se debe comenzar de inmediato un tratamiento con régimen de 6 meses recomendado por la OMS y aplicado actualmente en nuestro país de H, R, E y Z, administrándose éstos durante los dos primeros meses y continuando 4 meses más con H y R. Para el caso de personas con 12 años o más con TB pulmonar sensible a fármacos pueden ser tratadas durante 4 meses con rifapentina (P), H, Z y moxifloxacina (M), y niños y adolescentes entre 3 meses y 16 años con TB no grave pueden ser tratados durante 4 meses con H, R, Z y a veces también E, seguidos de dos meses de H y R.

Es de gran importancia destacar la necesidad de un correcto seguimiento del tratamiento, ya que un paciente con TB activa no tratado correctamente puede contagiar una media de entre 10 y 15 personas por año. Para ello se realizan baciloscopías de control una vez al mes o al menos 3 veces durante el tratamiento (2°, 4° y 6° mes). Así mismo, es sumamente relevante su reporte en los registros del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud para evaluar el desenlace individual de la enfermedad y la repercusión de las intervenciones nacionales y provinciales en la vigilancia poblacional de la TB, así como la necesidad de ajustar las estrategias de control con el fin de no solo disminuir su impacto, sino lograr reducir la

incidencia de esta enfermedad en un 90%, una de las metas de la estrategia “Fin de la TB” propuesta por la OMS y la ONU. [1]

Se debe evaluar siempre al inicio de la terapia antituberculosa si el paciente presenta factores de riesgo para el desarrollo de hepatotoxicidad como la edad (mayor riesgo entre los 35-60 años), embarazo (mayormente entre el tercer trimestre y los tres primeros meses del puerperio), desnutrición (especialmente en pacientes con hipoalbuminemia o déficit de vitaminas), alcoholismo (aumenta dos veces la incidencia de toxicidad), uso de drogas (hay drogas que aumentan la hepatotoxicidad como las antifúngicas, carbamazepina, metrotexato, acetaminofeno, entre otras), coinfección VIH o hepatopatías subyacentes. Para ello se sugiere realizar un estudio funcional hepático completo que incluya no solo un hepatograma, sino también una ecografía abdominal y marcadores para los virus de hepatitis A, B, C y también VIH.[3]

En cuanto al tratamiento, se sabe que la Isoniazida es una de las principales drogas antituberculosas causante de daño hepático dado que se metaboliza a intermediarios hepatotóxicos como la acetilhidracina, actuando ésta como acetilador y causando daño a las macromoléculas de los hepatocitos y, junto a otros medicamentos antituberculosos, ocasiona acumulación de grasa en el hígado (esteatosis hepática). También suele causar estrés oxidativo y produce un aumento del calcio intracelular que activa a la fosfolipasa A2, alterando y degradando fosfolípidos de la membrana. Este mecanismo de estrés oxidativo puede verse también tras la administración de rifampicina, aunque se sabe que ésta también alteraría la captación hepática de sales biliares y bilirrubina, compitiendo con estos compuestos por la unión con proteínas intracelulares y modificando la excreción de bilirrubina con la consecuente aparición de un cuadro colestásico (disminución o interrupción del flujo normal de bilis desde el hígado hacia el duodeno, visualizándose clínicamente como ictericia, agrandamiento del hígado, orinas oscuras por bilirrubina, entre otros). Aun así, la pirazinamida no deja de ser la droga antituberculosa con mayor probabilidad de causar daño hepático, conociéndose casos de falla hepática fulminante, hepatitis crónica activa y hepatitis granulomatosa; pero su toxicidad está relacionada a la dosis administrada que, al ser correctamente controlada (15 a 30 mg/kg con un máximo de 2 g/día por solo dos meses), no debería causar toxicidad. En cuanto al etambutol, dado que

siempre se administra en conjunto con otras drogas se desconocen sus mecanismos de hepatotoxicidad, pero se sabe que influye en ésta.

Entre otras complicaciones del tratamiento se pueden mencionar la neuritis óptica con manifestaciones como alteraciones en la visión de colores, disminución en la agudeza visual, visión borrosa, todos efectos irreversibles causados por la administración de Etambutol y que dependen de la dosis administrada. También se sabe que la Rifampicina puede causar injuria renal aguda, aunque esto es más raro y suele darse en casos donde la droga fue readministrada o usada intermitentemente y se resuelve con la suspensión del tratamiento. [4]

Otros estudios relacionan la asociación de H con R con la pancreatitis aguda con elevación de amilasa y lipasa séricas, indicando que ocurre en una alta proporción de pacientes bajo tratamiento de tuberculosis pulmonar. [5]

Tuberculosis en Argentina.

En nuestro país se reportó en el año 2024 una tasa de TB de 35.4/100.000 habitantes, siendo esta cifra 8.3% más alta que en 2023. Del total de casos reportados (16.647), 93.8% fueron casos incidentes: nuevos, recaídas o sin información de clasificación al inicio del tratamiento; y 6.2% casos no incidentes: fracasos, reingresos de pérdida de seguimiento, traslados. Dentro de ese 93.8%, un 85.9% corresponde a casos nuevos reportados, y dentro del 6.2% de los casos no incidentes, un 59.6% de los mismos corresponde a reingresos por pérdida de seguimiento. Estas cifras son de gran relevancia al momento de evaluar el impacto y el control de esta enfermedad a nivel nacional, permitiendo mejoras en las estrategias de regulación de la epidemia para disminuir e interrumpir su transmisión en la sociedad. [6; 7]

INJURIA RENAL AGUDA

La IRA es el brusco deterioro de la capacidad del riñón de excretar desechos nitrogenados y mantener la homeostasis hidroelectrolítica, caracterizado por un abrupto descenso del índice de filtración glomerular y aumento de los niveles de Urea y Creatinina en sangre. Una definición más exacta describe a la injuria renal aguda como una disminución de la función renal durante 48hs demostrado por un aumento de la creatinina sérica de más de 0.3mg/dl, o un aumento de la creatinina sérica de más del 50% de su valor de referencia o valor base, o el desarrollo de oliguria menor a 400ml/24hs.

Clasificación de la IRA.

Prerrenal: se trata de una disminución de la perfusión renal con caída de la presión de filtración glomerular. Generalmente es secundaria a pérdidas gastrointestinales, renales, quemaduras, laxantes, diuréticos, disminución del gasto cardíaco por valvulopatías, miocarditis, infarto agudo de miocardio, entre otras. La función tubular renal es normal, se aumenta la reabsorción tubular de sodio y agua y se concentra la orina (Osmolalidad mayor a 500mOsm) con bajo contenido de sodio. A causa de la hipoperfusión renal, las presiones de filtración glomerular y la tasa de filtración se mantienen por vasodilatación de las arteriolas aferentes y vasoconstricción de las eferentes. Como consecuencia hay una baja tasa de filtración glomerular, orina concentrada con bajo contenido en sodio y aumento brusco de uremia y creatininemia (aumentando más la primera). Clínicamente se evidencia por oliguria: diuresis menor a 400 mL/24h, de 200 mL en 12h o en pacientes sondados menor a 20mL/h.

Parenquimatosa, renal o intrínseca: se trata de un daño estructural del riñón por nefrotoxicidad directa por antibióticos, aminoglucósidos, contrastes yodados y antiinflamatorios no esteroideos o por hipoperfusión renal severa o persistente que resulta en lesiones tubulointersticiales glomerulares, de grandes vasos o en necrosis tubular aguda, siendo ésta última la más frecuentemente observada (70% de los casos).

Obstructiva o postrenal: se trata de una obstrucción grave o prolongada del tracto urinario distal (uretra, cuello de la vejiga, ambos uréteres o uno en pacientes con un único riñón funcional) o de lesiones intrarrenales por depósito de cristales, coágulos, cilindros, todas situaciones donde se ve interrumpida la correcta excreción urinaria. La causa más común es el prostatismo, pero puede darse por litiasis, coágulos, tumores, vejiga neurógena, fibrosis, entre otros.

Resultados

Radiografía tórax 27/04/25: mal centrada, bien penetrada e inspirada. Leve infiltrado paracardíaco en base derecha. ICT conservado. SCF libres.

Bacteriología: Hemocultivo x2 27/04/25: negativos. **Urocultivo 27/04/25**: negativo.

Coprocultivo 29/04/25: negativo. **Cultivo de esputo para gérmenes comunes 29/04/25**: negativo. **Esputo para BAAR 07/05/25**: positivo (+). **Esputo para BAAR 22/05/25**: negativo.

Orina completa: 27/04/25: amarillo, límpido, densidad 1015, PH 5, proteínas ++, leucocitos +, células epiteliales +/-, hematíes +/-.

04/05/25: amarillo, límpido, densidad 1010, PH 6, proteínas +, glucosa +++, leucocitos +/-, células epiteliales ++, hematíes +/-.

Serología VDRL/VIH/VHB/VHC 06/05/25: NR. VHC: reactivo en 2017.

Examen nutricional 26/05/25: Peso 43Kg, altura 1.73 m, IMC 15Kg/m2, pérdida de peso del 10% en menos de 1 mes. Paciente con desnutrición severa.

Hisopado nasal para detección de SARS-COV2 e Influenza A y B 28/04/25: no detectable. **Se repite 30/05/2025:** detectable para Influenza.

Hemograma

Día	27	28	29	10	16	17	19	26	27	28	29	30	09	10	13	17	18	23	24
Mes	04	04	04	05	05	05	05	05	05	05	05	05	06	06	06	06	06	06	06
GB mil/mm3	27.6	20.6	14.4	9.7	14.4	9.1	9.7		9.9				15.1		10.8				28
GR mil/mm3	5.83	4.64	4.25	4.29	4.8	4.34	4.27		4.66				4.89		3.67				4.79
Hb g/dl	16.6	13.2	12.1	11.9	13.4	12.1	11.8		13.1				13.3		10.2				13.4
Hto %	47.1	37.1	35.7	37.2	40.8	36.2	37.1		37.3				41.5		31.6				40.2
Pq mil/mm3	378	333	298	419	941	650	453		278				715		642				615

Química

Día	27	28	29	10	16	17	19	26	27	28	29	30	09	10	13	17	18	23	24
Mes	04	04	04	05	05	05	05	05	05	05	05	05	06	06	06	06	06	06	06
Glu mg%	122	101	78	67	144	73	73	71	71	87	86	75	103		114	136	77	227	126
Ure mg%	237	167	62	27	230	181	47	249	160				93	88	63	84	98	42	75
Cre mg%	1.84	1.35	0.76	0.8	6.02	2.43	0.75		1.82				3.09	1.68	0.99	1.5	1.86	1.54	3.90
BiT mg%	0.7	0.2	0.2	0.2	0.3		0.4			2.6			0.5	0.7	0.4	0.6		0.5	0.4
BiD mg%	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2		0.3			2.0			0.3	0.3	0.3	0.4		0.4	0.1
GOT U/L	12	12	13	32	48			98	163	754	495	140	25	22	38	56		27	48

GPT U/L	12	10	22	27	23			107	121	307	511	366	80	46	25	99		32	36
GGT U/L									142			178	404	302	256	337		239	314
FAL U/L	154	113	87	150	185		137		131	115	127	135	248	169	132	191		117	139
Amilasa U/L	154																		342
Na meq/L	116	123	125	130	123			119	128	129			125	125	130	129	124	134	123
K meq/L	3.7	2.7	3.6	4.9	6.9			5.3	4.2	3.3			6.2	5.4	4.8	5.7	5.5	3.9	6.4
Cl meq/L	73	84	91	97	84			81					85	92	93			89	78

Discusión y conclusiones

Al ingreso, el hemograma completo del paciente permite evidenciar una leucocitosis por cuadro infeccioso e inflamatorio; hemoconcentración por deshidratación severa agravada por vómitos y trombocitosis reactiva a inflamación crónica e infección, todo esto acompañado de un cuadro de desnutrición general. Además, se encuentra cursando una IRA con niveles elevados de urea y creatinina en sangre y una proteinuria persistente que revierte parcialmente al momento del alta. La radiografía de tórax evidencia un infiltrado pericardíaco derecho, mientras que la orina completa no evidencia reacción inflamatoria y el resto de los cultivos arrojan valores negativos, por lo que los médicos optan por un tratamiento empírico con piperacilina-tazobactam más trimetoprima-sulfametoxazol por 5 días.

Días después, al desarrollar una tos productiva se solicitó esputo para BAAR (07/05) que resultó en el diagnóstico de TB pulmonar activa, tras lo cual se comenzó el tratamiento con antibacilares resultando en la mejora del paciente y el alta.

Se puede observar en los resultados de laboratorio que a su reingreso (16/05) el paciente presenta indicios de una falla renal. Refirió que, ante la incomodidad por presentar una ileostomía, prefiere no ingerir líquidos para no requerir un pronto recambio de la bolsa. Esto, sumado a que la absorción intestinal de líquidos y minerales está disminuida a causa de la ileostomía, resulta en un alto grado de deshidratación y, en consecuencia, termina

ocasionando una IRA severa de tipo prerrenal que podría estar agravada por una nefrotoxicidad a causa del tratamiento antibacilar. Esta situación se observa repetidas veces a lo largo de su estadía en clínica, visualizándose al momento de su ingreso los días 27/04 y 16/05 y durante los días 26-27/05, 9-18/06 y 23-24/06 bruscos aumentos de urea y creatinina en sangre asociados a una leucocitosis que puede deberse al mismo proceso agudo. Ligado a esto, se observan reiteradamente valores de potasio (K+) en sangre elevados: la disminución de la excreción renal de ácidos no volátiles (H+) conlleva a un aumento de éstos en el plasma, por consiguiente, se produce un intercambio a nivel celular de los iones K+/H+, saliendo el K+ al plasma y causando una hiperpotasemia que debe resolverse de inmediato. Se indicaron puf de salbutamol, insulina endovenosa y fluidoterapia, a la vez que se estimuló la ingesta hídrica.

El día 26/05 se comienza a visualizar en el laboratorio un notable aumento de las transaminasas hepáticas GOT y GPT y, sumado a esto, una hiperbilirrubinemia el día 28. Dichos resultados se correlacionan con la elevada tasa de hepatotoxicidad de los antibacilares indicados, por lo que se realizó interconsulta con infectología y, teniendo en cuenta el resultado negativo del esputo para BAAR (22/05), se decidió suspender el tratamiento antituberculoso hasta visualizar mejoras en el perfil hepático.

El día 30/05 al examen físico se observa al paciente en estado febril, con temperatura de 38°C, por lo que se solicitan hemocultivos x2 y se realiza hisopado nasal para COVID e Influenza A y B, resultando positivo este último.

El 05/06 tras la normalización del perfil hepático se decide reiniciar el tratamiento antituberculoso con cuádruple asociación de manera escalonada, comenzando con rifampicina, agregando isoniazida a las 48hs, piracinamida a las 72hs y etambutol a las 96hs. Dada la prolongada internación y la manifestación de síntomas compatibles con un cuadro depresivo, se solicita además interconsulta con el servicio de Salud Mental para evaluación y abordaje psicoterapéutico del paciente.

El paciente vuelve a presentar transaminasas elevadas el 17/06, por lo que se solicitó una ecografía abdominal, la cual evidenció un hígado de tamaño, densidad y ecogenicidad aumentados, hallazgos compatibles con esteatosis hepática. Esta acumulación de grasa en el parénquima hepático genera una lesión. Asimismo, se observó una vesícula biliar con signos

de colesterosis y presencia de barro biliar tumefacto con múltiples microlitos (microcálculos) junto a un engrosamiento de las paredes vesiculares. El barro biliar tumefacto sumado a los microlitos genera colestasis, desencadenando un episodio de pancreatitis aguda. Este cuadro se evidencia en los valores séricos de amilasa y leucocitosis (24/06). La pancreatitis fue abordada con reposo digestivo y fluidoterapia, logrando una pronta resolución clínica.

Adicionalmente, el paciente también presentó complicaciones secundarias como valores alterados de los tiempos de protrombina (TP) y tromboplastina parcial activada (KPTT) que resolvieron al administrarse vitamina K.

Actualmente el paciente continúa internado a la espera de una reconexión intestinal.

Perspectivas

El abordaje integral de este caso clínico permite comprender cómo los determinantes sociales de la salud —especialmente la situación socio-habitacional del paciente— impactan de forma directa en el desarrollo, tratamiento y pronóstico de enfermedades infecciosas como la tuberculosis, así como en sus complicaciones.

Desde el punto de vista bioquímico, las sucesivas internaciones del paciente estuvieron marcadas por alteraciones significativas en los parámetros hepáticos y renales. Estas alteraciones no pueden analizarse de forma aislada, sino que deben ser comprendidas en el contexto de una marcada desnutrición, un consumo previo de sustancias, falta de acceso sostenido al agua potable, higiene y medicación adecuada, y una adherencia comprometida al tratamiento médico, todos ellos factores que posicionan al paciente en un lugar de vulnerabilidad.

El tratamiento antituberculoso, si bien es efectivo, supone una importante carga metabólica, con riesgo de hepatotoxicidad y nefrotoxicidad. En este paciente, la toxicidad hepática fue evidente con el aumento de transaminasas (GOT/GPT), bilirrubina total y directa, y la aparición de esteatosis hepática y colestasis, lo cual se agravó por la desnutrición, la hipoproteinemia y la deshidratación crónica. En este contexto, la ileostomía también representa un factor limitante en la absorción de nutrientes y electrolitos, favoreciendo una

constante inestabilidad hidroelectrolítica y cuadros de injuria renal aguda, detectados mediante los aumentos de urea, creatinina y potasio.

Este caso es un claro ejemplo de la importancia del rol bioquímico no solo para diagnosticar y monitorear las distintas enfermedades y sus complicaciones, sino también como una herramienta clave para detectar tempranamente descompensaciones metabólicas de un paciente que enfrenta múltiples barreras para su recuperación.

El caso nos demuestra cómo el abordaje de la salud resulta insuficiente si no se acompaña de una contención social, acceso garantizado a la salud, y un seguimiento interdisciplinario que contemple la realidad habitacional, cultural y económica del paciente. De lo contrario, las recaídas y complicaciones se tornan inevitables.

Desde una perspectiva bioquímica orientada a la salud pública, este caso subraya la necesidad de desarrollar políticas integradoras que aborden los determinantes sociales de la enfermedad, contemplando no solo los tratamientos farmacológicos, sino también el entorno del paciente como un factor decisivo en el éxito terapéutico.

Bibliografía

1. Aidar O, Ambroggi M. Guías de diagnóstico, tratamiento y prevención de la tuberculosis. Hospital Muñiz – Instituto Vaccarezza. 2010:5-19.
2. Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization. 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
3. Aguayo M & Rodríguez JC. Hígado y terapia antituberculosa. Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias. 2011;27:53-57.
4. Beebe A, Seaworth B & Patil N. Rifampicin-induced nephrotoxicity in a tuberculosis patient. Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases. 2015;1:13-15.
[Rifampicin-induced nephrotoxicity in a tuberculosis patient - ScienceDirect](#)
5. Gubergrits N, Klotchkov A, Lukashevich G, Maisonneuve P. The Risk of Contracting Drug-Induced Pancreatitis during Treatment for Pulmonary Tuberculosis. Journal of the Pancreas. 2015;16(3):278-282. <http://www.serena.unina.it/index.php/jop>
6. Ministerio de Salud de la República Argentina, Dirección de respuesta al VIH, ITS, Hepatitis Virales y Tuberculosis. 2025. Boletín N° 8 Tuberculosis y Lepra en la Argentina.
7. Ministerio de Salud de la República Argentina, Dirección de Epidemiología. 2025. Boletín Epidemiológico Nacional N°742, SE 5.
8. Dr. Lococo B, Dra. Fazzini B, Dra. Quevedo A, Dr. Tais R, Dra. Malvar A. Insuficiencia renal aguda y sepsis. Revista Nefrología Argentina. 2018;16(1):4-12.
https://www.nefrologiaargentina.org.ar/numeros/2018/volumen16_1/Articulo_01_marzo.pdf



Paciente en situación de calle con Tuberculosis, su tratamiento y complicaciones.



Autores: Karina Alegre¹, Linda Weng², Analía Elía², Adriana DiCosco², Gladis Guerrero², Belinda Robledo², Hugo Brascesco², Carina Conforti², Julieta Corbella², Gabriela Rolando², Bárbara Balbi¹.

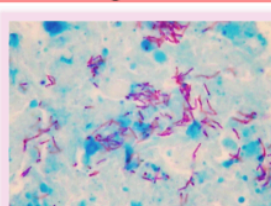
¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.

²Hospital Dr. Roque Sáenz Peña, Municipalidad de Rosario.

Caso clínico

Paciente masculino de 53 años en situación socio-habitacional compleja ingresa a guardia con cuadro de tos, fiebre y disnea, acompañado de síntomas urinarios y gastrointestinales. Se lo interna para estudios, incluyendo cultivos y radiografía. Durante la internación desarrolla tos productiva y la baciloscopia seriada resulta positiva para *Mycobacterium tuberculosis*, iniciándose aislamiento y tratamiento antituberculoso estándar.

Diagnóstico



Espuito para BAAR positivo

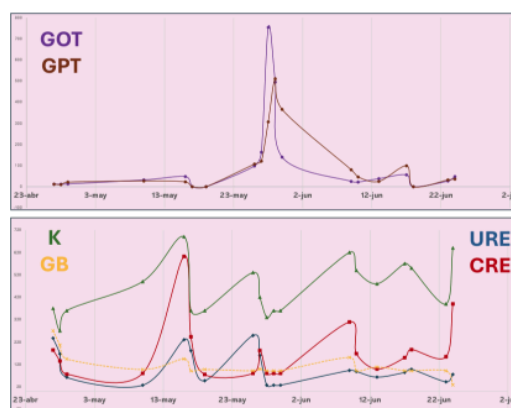
Antecedentes

Ex-etilista
Ex-tabaquista
Consumo problemático
Desnutrición
Insuficiencia renal aguda por deshidratación severa
Ileostomía y colostomía secundarias a herida de arma de fuego

Tratamiento

Antibacilares cuádruple asociación de:
Rifampicina
Isoniacida
Pirazinamida
Etambutol

Complicaciones



El paciente presentó múltiples complicaciones interrelacionadas: desde el ingreso mostró un cuadro infeccioso-inflamatorio con leucocitosis, deshidratación severa, hemoconcentración, trombocitosis reactiva y desnutrición. Tras confirmarse una tuberculosis pulmonar activa, inició tratamiento antibacilar pero posteriormente desarrolló hepatotoxicidad con elevación de transaminasas e hiperbilirrubinemia, lo que obligó a suspender y luego reintroducir los fármacos de forma escalonada. Antes y después de esta reintroducción presentó en repetidas ocasiones insuficiencia renal aguda, probablemente asociada a la nefrotoxicidad del tratamiento, junto con la baja ingesta hídrica y los efectos propios de la ileostomía. Además, cursó una infección respiratoria por influenza B, alteraciones electrolíticas con hiperpotasemia de manejo urgente y, más adelante, una esteatosis hepática con colesterosis y microlitiasis vesicular que desencadenaron una pancreatitis aguda resuelta con medidas de sostén. También presentó alteraciones de la coagulación corregidas con vitamina K y síntomas compatibles con un cuadro depresivo.

Perspectivas

Los determinantes sociales de la salud, especialmente las condiciones socio-habitacionales, influyen de manera directa en el desarrollo, evolución y tratamiento de enfermedades como la tuberculosis, mostrando la necesidad de comprender cada situación clínica dentro del contexto de vulnerabilidad del paciente. En este marco, el rol bioquímico resulta esencial para diagnosticar, monitorear y detectar tempranamente alteraciones metabólicas, aportando información clave para orientar decisiones terapéuticas. Este caso evidencia además la importancia de un abordaje integral e interdisciplinario que acompañe la atención médica con contención social y acceso efectivo a los cuidados de salud. Desde la perspectiva de salud pública, se destaca la urgencia de implementar políticas que integren los determinantes sociales y reconozcan que el entorno del paciente es un componente fundamental para asegurar la adherencia, la continuidad del tratamiento y el éxito terapéutico.

"Las condiciones de vida son las que conforman la salud."
Florence Nightingale

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Práctica Profesional Obligatoria
2025

[Caso clínico: Dermatomiositis juvenil](#)

Autoras: Comba Sanchez Milagro Jacqueline, Compagnucci Valentina.

Tutora: Marchetti Candela.

Institución de rotación: Hospital de Niños Zona Norte.

Presentación

En el presente trabajo se desarrollarán las bases clínicas, diagnósticas y pronósticas de la Dermatomiositis Juvenil, seguido del análisis del caso clínico elegido durante nuestro paso por el Hospital de Niños Zona Norte en el contexto de las Prácticas Profesionales Obligatorias de la carrera Bioquímica.

El objetivo es integrar el conocimiento teórico con el rol del profesional bioquímico, destacando la importancia del abordaje multidisciplinario en el manejo de esta patología, así como el contexto socioeconómico en el que nos encontramos.

Se trata de un paciente de 14 años de edad, que consulta en primera instancia por eritema malar y en párpados, y dolor con leve disminución de la fuerza a nivel cervical y en ambas caderas. Se realiza diagnóstico de dermatomiositis juvenil (Noviembre del 2022) y se indica tratamiento ambulatorio con Prednisona. Ante falta de respuesta, se indica hidroxicloroquina y luego metotrexate, con el cuál muestra mejoría sintomatológica luego de 3 meses de uso.

Marco teórico

La *Dermatomiositis* es una enfermedad autoinmune que se clasifica dentro de las miopatías inflamatorias idiopáticas, caracterizadas por lesión inflamatoria y necrosis del músculo estriado, sumado a manifestaciones cutáneas. Es la más frecuente en niños menores de 17 años (85%), con una incidencia de 2-4 casos/1 millón de habitantes.

Fisiopatología: la predisposición genética, en conjunto con la exposición a factores ambientales desencadenantes (como la radiación UV, infecciones virales, tóxicos, estrés, etc.), producen un daño en la célula muscular que lleva a la ruptura y liberación de proteínas. Estas son reconocidas como antígenos por el sistema inmune y presentadas a los linfocitos T, que al activarse, colaboran con los linfocitos B para la producción de autoanticuerpos a-Jo1. Además, hay una activación del sistema del complemento, tanto por la vía clásica como por la vía alternativa, que genera un depósito de c5b-c9 en capilares de piel y músculo, llevando a **isquemia, infartos y disolución de miofilamentos**. Este cuadro culmina con la producción de atrofia muscular.

La dermatomiositis es una enfermedad **crónica y progresiva**, que puede comprometer la función muscular e incluso llevar a la muerte en ausencia de tratamiento adecuado.

Manifestaciones clínicas:

- Cutáneas: pápulas de Gottron en nudillos, eritema en heliotropo, engrosamiento de cutícula, manos de mecánico, poiquilodermia, erupción en mejillas, codos y rodillas.
- Artralgias y artritis.
- Debilidad muscular de cintura escapular y pelviana, disfagia, disminución de la capacidad respiratoria por afectación del diafragma y músculos accesorios, neumonía, fibrosis. Los músculos del cuello, las caderas, los hombros y el abdomen son los más afectados.
- Miocarditis, insuficiencia cardíaca.
- En las fases avanzadas, puede generar dificultades en la marcha (hiperlordosis compensadora).

Diagnóstico: presencia de 2 posible, 3 probable, 4 definitivo.

1. Debilidad muscular simétrica proximal por semanas.
2. Biopsia muscular: miopatía inflamatoria con infiltrado perivascular de LTCD4, macrófagos y plasmocitos.
3. Hallazgos electromiográficos de miopatía.
4. Erupción cutánea.
5. Aumento de enzimas musculares en plasma: CPK, Aldolasa, LDH, GOT y mioglobina.

Además, en el laboratorio podemos encontrar: aumento de VES y PCR, presencia de auto-Ac específicos (a-Jo1, a-PL7, a-PL12) y no específicos (ANA/FAN).

Pronóstico: el tipo de auto-Ac definirá subgrupos de pacientes con clínica, respuesta a tratamiento y pronóstico similares (**Tabla 1**). Además, también son de peor pronóstico: género femenino, etnia, edad de inicio avanzada o inicio tardío del tratamiento.

Anticuerpo	Fenotipo clínico	Pronóstico
Mi2	DM clásica, buena respuesta a corticoides.	Buen pronóstico
MDA5	DM amiotrófica, ulceración cutánea y Enfermedad Pulmonar Intersticial (EPI)	Mal pronóstico

	rápidamente progresiva.	
TIF 1-gamma	DM clásica, lesiones cutáneas severas, curso crónico, lipoatrofia y ulceración en DM juvenil.	Mal pronóstico, alta asociación a cáncer.
NXP-2	En DM juvenil (25%) y polimiositis. Calcinosis cutánea.	Buena respuesta al tratamiento. Mayor riesgo de cáncer en adultos.
JO1, PL7 Otros AAS	Síndrome antisintetasa, miositis, EPI, manos de mecánico, Raynaud y fiebre.	Mal pronóstico, mayor severidad.
SRP	Debilidad muscular de rápida progresión. Síndrome de cabeza caída, disfagia.	
Ku	Miositis, fenómeno de Raynaud, artralgia, EPI	

Tabla 1. Autoanticuerpos que pueden estar presentes en Dermatomiositis, fenotipo clínico al que se asocian y pronóstico de la enfermedad.

Las principales causas de muerte en estos pacientes son: neumonía secundaria a aspiraciones, malnutrición secundaria a disfagia, debilidad, neoplasias, insuficiencia cardíaca, efectos secundarios al tratamiento esteroideo.

Caso clínico

Estudios complementarios (Junio 2023):

- Electromiografía: compromiso miopático proximal y distal, sin actividad al momento (posiblemente por remisión de enfermedad o tratamiento esteroideo).
- Prueba de difusión pulmonar de CO: 105%, patrón de obstrucción grave.
- Videodeglución: deglución poco segura y poco eficiente.
- Biopsia de piel: ligera atrofia epidérmica, asociada a congestión de vasos dérmicos superficiales.

Internación en Hospital Escuela Eva Peron (HEEP): Julio a Septiembre del 2023

Presenta cuadro de 5 días de evolución, caracterizado por debilidad generalizada, que fue progresando hasta limitar la deambulacion. Por agregar disfagia, asiste a guardia externa del HEEP. A su ingreso se decide suspender la Hidroxicloroquina y el Metotrexate. Se asume cuadro como reactivación de su enfermedad de base,

asociado a neumonía broncoaspirativa, motivo por el cuál inicia tratamiento antibiótico. Se interconsulta con Servicio de Reumatología, quien solicita laboratorio completo, serologías, perfil inmunológico y panel ampliado para dermatomiositis.

Resultados de laboratorio:

- **CPK: 795 mU/ml** (VR: menor a 195 mU/ml)
- **LDH: 510 U/L** (VR: 120-300 U/l)
- **FAN: reactivo. Título: 1/160.**
- FR y CCP: no reactivo.
- Anti ADN, Ro, La, Sm, RNP, Scl 70, Anca C y P: no reactivo.
- C3; C4; y PxE normal
- Serologías negativas
- Panel inmunológico:
 - Ac específicos de miositis
 - **Anti-Jo1 y otros AAS (anti-PL7): reactivo**
 - **Anti-SRP: reactivo**
 - **Anti-TIF1: reactivo**
 - **Anti-MDA5: reactivo**
 - Ac asociados a miositis: **Anti-Ku: reactivo**

Durante la internación deciden realizar pulso de Metilprednisolona, Rituximab y Gamma-globulina.

11/08/23. Por insuficiencia respiratoria, con posterior requerimiento de inotrópicos, se decide pase a UTI. Allí vinculan a asistencia respiratoria mecánica, y tras 2 intentos de extubación fallidos, deciden realizar traqueostomía.

15/09/23. Reingresa a sala de internación donde deciden por segunda vez pasaje de Gamma-globulina. Se solicita nueva videodeglución, que muestra aspiración masiva de los líquidos administrados, por lo que deciden realizar gastrostomía.

Tras 60 días de internación, ante paciente hemodinámicamente estable, afebril, sin requerimiento de O2 y con mejoría clínica y de laboratorio, deciden otorgar alta médica hospitalaria. Se retira de la institución con corticoides, TMS profiláctico, e indicación para realizar nuevamente Rituximab en 6 meses.

Internación en Hospital Provincial del Centenario (HPC): Febrero a Mayo del 2024

El paciente es derivado desde consultorio de Reumatología, por cuadro de semanas de evolución de tos y aumento de secreciones por traqueostomía, con progresión de la debilidad muscular, sin sostén cefálico, con dificultad deglutoria y lesiones en piel generalizadas, violáceas y con leve descamación. Al momento del ingreso se encontraba realizando Prednisona y Micofenolato mofetil. Se asume cuadro como reactivación de su enfermedad de base y sospecha de neumopatía infecciosa, por lo que se decide realizar antibioticoterapia.

Exámenes complementarios:

- Laboratorio:
 - **CPK= 610 mU/ml**
 - **LDH= 455 U/l**
- TAC de tórax (02/24): consolidación parenquimatosa en lóbulo inferior derecho e izquierdo, acompañada de nódulos subpleurales con halo en vidrio esmerilado.
- RMI cintura escapular y pelviana (02/24): atrofia de los cuerpos musculares.

Se interconsulta con servicio de Reumatología, y en conjunto se decide realizar: pulso de Metilprednisolona, Gamma-globulina, Ciclosporina y Ciclofosfamida.

El paciente demostró escasa mejoría clínica: leve mejoría de la movilidad, logró sostén cefálico, sedestación por 45 minutos, normalización de las enzimas musculares. No se observan cambios en la RMI luego de 3 meses de realizar tratamiento.

Tras 90 días de internación, se decide derivación al Hospital de Niños Zona Norte (HNZN), para evaluación por parte de Servicio pediátrico y Reumatología pediátrica.

INTERNACIÓN EN HNZN: desde Mayo del 2024

Al ingreso se asume cuadro como reactivación de Dermatomiositis Juvenil, en tratamiento con Prednisona. Es abordado multidisciplinariamente:

- Servicio de Reumatología indica tratamiento con Azatioprina, y solicita ingresar pedido a Auditoría de BARICITINIB, asumiendo fracaso de la terapéutica convencional y biológica.
- Servicio de Dermatología indica iniciar Hidroxicloroquina, y medidas no farmacológicas (compresas de avena en rostro y fotoprotección).

- Servicio de Kinesiología y Fisiatría realizan pruebas funcionales para dermatomiositis, e inician rehabilitación motriz.
- Servicio de Fonoaudiología, para estudio y estimulación de su deglución.
- Resultados de laboratorio:
 - **GR: 3,54 millones/mm³; Hb: 10,1 g/dl; Hto: 30,6%**
 - **VES: 55 mm/hs**
 - **CPK: 88 mUI/ml**

Ante estabilidad clínica, se otorga alta médica hospitalaria, con estricto plan de seguimiento ambulatorio, y asistencia 2 veces por semana al Hospital de día de nuestra institución para continuar abordaje.

En los laboratorios realizados durante este periodo, se sigue sosteniendo la anemia. Además, se observa un aumento de PCR (20,2mg/l), y en el mes de julio, se comienza a evaluar la procalcitonina, con valores de 0,19 ng/ml, indicando un bajo riesgo de sepsis severa.

En Agosto del 2024, consulta por deposiciones líquidas, no disenteriformes, de 10 días de evolución, que alternan con 10-15 días de constipación. Por constatar deshidratación moderada, se decide internación para control evolutivo y tratamiento. De manera complementaria, se decide realizar un estudio de sangre oculta en materia fecal, el cual arroja un resultado POSITIVO.

Tras autolimitar deposiciones y resolver deshidratación, agrega pirosis, náuseas y regurgitación. Se interconsulta con servicio de Gastroenterología y se indican diferentes terapéuticas, sin éxito. Se solicita Angio TAC, donde se observan cambios inflamatorios a nivel intestinal.

Por agregar dolor abdominal, intolerancia a la alimentación por gastrostomía, episodio único de melena, y franca desmejoría del estado general, se asumen los síntomas gastrointestinales como parte de su enfermedad de base, por lo que Servicio de Reumatología indica nuevo pulso de Metilprednisolona, y Gamma-globulina.

Durante la internación, se le realiza un seguimiento de laboratorio de determinados parámetros bioquímicos (**Tabla 2**):

	20/8/24	28/8/24	1/9/24	5/9/24
GR (millones/mm ³)	3,33	3,96	3,26	3,6

Hb (g/dl)	8,9	10,3	9,3	10,3
Hto (%)	25,8	33,4	28,1	31,2
VES (VR: hasta 15 mm/hs)	36	15	-	-
Sideremia (VR: 60-160 ug%)	53	-	-	-
Transferrina (VR: 200-360 mg/dl)	146	-	-	-
% Sat transferrina (VR: 16-50%)	26	-	-	-
Ferritina (VR: 15-120 ng/ml)	1332	-	-	-
Procalcitonina (VR: 0,05-0,09 ng/ml)	0,11	-	0,16	-
C3 (VR: 90-180 mg/dl)	71	-	-	77
C4 (VR: 10-40 mg/dl)	22	-	-	17
Albumina (VR: 4,02-4,76 g%)	-	3,3	2,7	-

Tabla 2. Resultados de laboratorios realizados en 4 ocasiones durante el período de internación Agosto-Septiembre 2024.

Además, en el laboratorio del 5 de Septiembre se estudiaron diferentes anticuerpos:

- **FAN:** reactivo. Título: 1/1280. Patrón moteado.
- **ENA:** reactivo.
- Anti ADN, La, Sm, RNP, Scl 70: no reactivos.
- **Anti-Ro y a-nucleosomas:** reactivo débil.
- a-Jo1: no reactivo. En 2023, durante la internación en HEEP, habían dado +. Esta variación puede deberse a factores técnicos del laboratorio (variabilidad interlaboratorio, utilización de distintos métodos de detección), el tratamiento inmunosupresor al que fue sometido, o la variabilidad natural del paciente.
- Anti-fosfolípidos:
 - Anticoagulante lúpico: no reactivo.

- Anti-cardiolipinas: no reactivo
- Anti-beta 2 glicoproteína: no reactivo.

En los meses posteriores, el paciente continuó con los controles periódicos en el hospital, pero dado que su estado clínico no mejoraba, en reiteradas ocasiones se decidió ingresarlo a internación, para facilitar el control y evolución de su enfermedad. A lo largo de estos meses, se realizaron diferentes controles de laboratorio, arrojando los siguientes resultados (**Tabla 3**):

	10/12/24	5/3/25	3/4/25	10/4/25	21/4/25
GR (millones/mm ³)	4,15	4,03	3,97	3,26	3,32
Hb (g/dl)	11,4	11,6	11,6	9,6	9
Hto (%)	33,8	35	34,8	28,6	29,5
VES (VR: hasta 15 mm/hs)	43	105	69	49	-
PCR (VR: 0-5 mg/l)	29,1	4,8	1,4	-	10,7
LDH (VR: 120-300 U/l)	-	-	193	-	209
CPK (VR: hasta 195 mUI/ml)	95	74	97	-	71
Procalcitonina (VR: 0,05-0,09 ng/ml)	0,17	-	-	-	-
Ferritina (VR: 15-120 ng/ml)	-	-	435,5	-	258,5
Albumina (VR: 4,02-4,76 g%)	-	-	3,36	-	3,3

Tabla 3. Resultados de laboratorios realizados en el período Diciembre 2024-Abril 2025

Luego de varios meses sin evidenciar mejoras clínicas, y por falta de respuesta al tratamiento, se decidió realizar una reunión interdisciplinaria con los profesionales que abordan el caso para tomar una decisión acerca de cómo continuar el tratamiento y el manejo del paciente.

Esta se realizó el 24/4/25, y en dicha oportunidad, luego de evaluar las opiniones y puntos de vista de cada uno de los Servicios, se llegó a la conclusión de que la continuación del tratamiento no iba a brindar mejoras en su calidad de vida. Por lo que, por consenso médico, se decidió retirar el tratamiento convencional y derivarlo al Servicio de Cuidados Paliativos del HNZN.

Actualmente, el paciente se encuentra con internación domiciliaria pediátrica, con un seguimiento cercano de su estado físico, con el objetivo de otorgarle la mejor calidad de vida posible en su estado terminal.

Discusión y conclusiones

A lo largo del seguimiento del paciente se observaron alteraciones en los resultados de laboratorio que resultan concordantes con la fisiopatología descrita para esta patología.

En primer lugar, la **anemia normocítica normocrómica**, evidenciada por hemoglobina y hematocrito bajos de forma persistente, puede interpretarse como una anemia de los procesos crónicos, dada por la liberación sostenida de citoquinas proinflamatorias, que puede interferir con la eritropoyesis y el metabolismo del hierro. La **VES** aumentada a lo largo del curso clínico refuerza el componente inflamatorio crónico de la enfermedad. Sus variaciones pueden deberse a que se correlaciona parcialmente con la actividad de la enfermedad. Por su parte, la **ferritina** y la **PCR** son reactantes de fase aguda, por lo que es esperable que se encuentren elevadas en contextos inflamatorios sistémicos como este.

La **CPK** y la **LDH** son enzimas musculares que se consideran marcadores bioquímicos de daño muscular. En este caso, estaban inicialmente elevados, lo que permitió inferir una fase activa inicial con daño muscular evidente, pero luego se observó una normalización de ambos parámetros. Teniendo en cuenta la clínica del paciente, esta normalización sugiere que la destrucción muscular fue muy extensa, llevando a la pérdida significativa e irreversible de masa muscular funcional, y por ende a la disminución en la liberación de estas enzimas al torrente sanguíneo. Por último, el hallazgo de niveles bajos de **C3** puede explicarse por consumo persistente, debido a la activación crónica del sistema del complemento.

Perspectivas

En el contexto de un paciente de 14 años con dermatomiositis juvenil en estadio terminal, el abordaje de salud interdisciplinario adquiere una relevancia fundamental. La reunión a la que tuvimos la oportunidad de asistir nos permitió reconocer, con mayor profundidad, la importancia de este enfoque interdisciplinario. Observamos que esta modalidad de trabajo permite integrar las miradas médica, psicológica y social, garantizando una atención integral que no solo se centre en el manejo de los síntomas físicos, sino también en el acompañamiento emocional del paciente y su familia, la contención y el respeto por su dignidad. La participación coordinada de profesionales como médicos, enfermeros, psicólogos, trabajadores sociales, kinesiólogos y eventualmente equipos de cuidados paliativos, resulta clave para adaptar los recursos disponibles a las necesidades reales del entorno del paciente, minimizando barreras de acceso y brindando apoyo continuo en un momento de alta vulnerabilidad. Esta perspectiva colaborativa no solo mejora la calidad de vida en etapas avanzadas de la enfermedad, sino que también humaniza la atención y fortalece el vínculo entre el sistema de salud y las comunidades más desfavorecidas. Por su parte, el paso a cuidados paliativos domiciliarios expone la necesidad de fortalecer el servicio de internación domiciliaria del sistema de salud pública, para garantizar que todas las personas puedan acceder a su derecho de manera digna y respetada.

Bibliografia

- Carstens, P. O., Schmidt, J. (2014). *Diagnosis, pathogenesis and treatment of myositis: recent advances*. Clinical & Experimental Immunology, 175(3):349-358. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cei.12194>



Caso clínico: DERMATOMIOSITIS JUVENIL



Comba Sanchez Milagro Jacqueline¹; Compagnucci Valentina¹; Mirta Tartabini²; Candela Marchetti¹

¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - UNR; ²Hospital de Niños Zona Norte "Dr. Roberto M. Carra"

PRESENTACIÓN

Paciente de 14 años de edad, que consulta en Noviembre de 2022 en otro efector de salud, por eritema malar y en párpados, y dolor con leve disminución de la fuerza a nivel cervical y en ambas caderas. Allí se realiza diagnóstico de **Dermatomiositis Juvenil** y se indica tratamiento.

MARCO TEÓRICO

La Dermatomiositis es una enfermedad autoinmune crónica y progresiva que se clasifica dentro de las miopatías inflamatorias idiopáticas, caracterizadas por lesión inflamatoria y necrosis del músculo estriado, sumado a manifestaciones cutáneas. Es la más frecuente en niños menores de 17 años (85%). Puede llevar a la muerte en ausencia de tratamiento adecuado.

Diagnóstico: se debe contar con la presencia de 2 (posible), 3 (probable), 4 (definitivo) de los siguientes criterios:

- Debilidad muscular simétrica proximal por semanas.
- Biopsia muscular: miopatía inflamatoria con infiltrado perivascular de linfocitos T CD4, macrófagos y plasmocitos.
- Hallazgos electromiográficos de miopatía.
- Erupción cutánea.

- Aumento de enzimas musculares en plasma: CPK, Aldolasa, LDH, GOT y mioglobina.

Además, en el laboratorio podemos encontrar: aumento de VES y PCR, presencia de auto-Ac específicos (a-Jo1, a-PL7, a-PL12) y no específicos (ANA/FAN).



CASO CLÍNICO

Junio de 2023: se le realizaron estudios complementarios, donde se evidenció compromiso de tejidos musculares y cutáneos:

- Electromiografía
- Prueba de difusión pulmonar de CO
- Videodeglución
- Biopsia de piel

Julio-Septiembre de 2023: internación por reactivación de la enfermedad en el Hospital Escuela Eva Peron, se interconsulta con servicio de Reumatología, quien solicita laboratorio completo, serologías, perfil inmunológico y panel ampliado para dermatomiositis. Se muestran los resultados que dieron alterados:

- CPK: 795 mU/ml (VR: menor a 195 mU/ml)
- LDH: 510 U/L (VR: 120-300 U/L)
- FAN: reactivo. Título: 1/160.
- Panel inmunológico:
 - Ac específicos de miositis
 - Anti-Jo1 y otros AAS (anti-PL7): reactivo → mal pronóstico
 - Anti-SRP: reactivo → asociados a fenotipo con debilidad muscular de rápida progresión, síndrome de cabeza caída y disfagia.
 - Anti-TIF1: reactivo → mal pronóstico
 - Anti-MDA5: reactivo → mal pronóstico
 - Ac asociados a miositis: Anti-Ku: reactivo

Tras 2 meses de internación, ante estabilidad clínica, deciden otorgar alta médica hospitalaria, con corticoides y TMS profiláctico.

Febrero-Mayo del 2024: es derivado desde consultorio de Reumatología en el Hospital Provincial del Centenario, por cuadro de reactivación de su enfermedad de base y sospecha de neumopatía infecciosa

CPK= 610 mU/ml, y LDH= 455 U/L → daño progresivo y constante del tejido muscular.

Mayo del 2024: se deriva al Hospital de Niños Zona Norte (HNZN), para evaluación por parte de Servicio Pediátrico y Reumatología Pediátrica. Allí se decide un abordaje multidisciplinario: servicio de Reumatología, Dermatología, Kinesiología y Fisiatría, y Fonoaudiología.

- Resultados de laboratorio:
 - GR: 3,54 millones/mm³; Hb: 10,1 g/dl; Hto: 30,6%
 - VES: 55 mm/hs
 - CPK: 88 mU/ml

Ante estabilidad clínica, se otorga alta médica hospitalaria, con estricto plan de seguimiento ambulatorio, y asistencia 2 veces por semana al Hospital de día de esta institución para continuar abordaje.

Agosto-Septiembre del 2024: el paciente presentó un cuadro gastrointestinal de dolor abdominal, intolerancia a la alimentación por gastrostomía, episodio único de melena, y franca desmejoría del estado general, que se asumen como parte de su enfermedad de base. Durante la internación, se le realiza un seguimiento de laboratorio de los siguientes parámetros bioquímicos:

	20/8/24	28/8/24	1/9/24	5/9/24		20/8/24	28/8/24	1/9/24	5/9/24
GR (millones/mm ³)	3,33	3,96	3,26	3,6	% Sat transferrina (VR: 16-50%)	26	-	-	-
Hb (g/dl)	8,9	10,3	9,3	10,3	Ferritina (VR: 15-120 ng/ml)	1332	-	-	-
Hto (%)	25,8	33,4	28,1	31,2	Procalcitonina (VR: 0,05-0,09 ng/ml)	0,11	-	0,16	-
VES (VR: hasta 15 mm/hs)	36	15	-	-	C3 (VR: 90-180 mg/dl)	71	-	-	77
Sideremia (VR: 60-160 ug%)	53	-	-	-	C4 (VR: 10-40 mg/dl)	22	-	-	17
Transferrina (VR: 200-360 mg/dl)	146	-	-	-	Albumina (VR: 4,02-4,76 g%)	-	3,3	2,7	-

Además, en el laboratorio del 5 de Septiembre se estudiaron diferentes anticuerpos, que arrojaron los siguientes resultados:

- FAN: reactivo. Título: 1/1280. Patrón moteado.
- a-Jo1: no reactivo. En 2023 habían dado +. Esta variación puede deberse a factores técnicos del laboratorio (variabilidad interlaboratorio, utilización de distintos métodos de detección), el tratamiento inmunosupresor al que fue sometido, o la variabilidad natural del paciente.

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

En los meses posteriores, el paciente continuó desmejorando, y para facilitar el control y evolución de su enfermedad, se decidió reingresar a internación en reiteradas ocasiones, donde se realizaron controles de laboratorio que no demostraron cambios sustanciales:

- **Anemia de los procesos crónicos:** evidenciada por hemoglobina y hematocrito disminuidos de forma persistente.
- Valores aumentados de **PCR** y **VES:** refuerza el componente inflamatorio sistémico crónico de la enfermedad.
- Normalización de la **CPK** y **LDH:** sugiere que la destrucción muscular fue muy extensa, llevando a la pérdida significativa e irreversible de masa muscular funcional, y por ende a la disminución en la liberación de estas enzimas al torrente sanguíneo.

PERSPECTIVAS

En abril de 2025 se realizó una reunión interdisciplinaria para tomar una decisión acerca de cómo continuar el tratamiento y el manejo del paciente.

Se concluyó que la continuación del tratamiento no iba a brindar mejoras en su calidad de vida, por lo que se decidió suspenderlo y derivarlo al Servicio de Cuidados Paliativos Domiciliarios a cargo del HNZN.

Esta modalidad de trabajo garantiza una atención integral que no solo se centra en el manejo de los síntomas físicos, sino también en el acompañamiento emocional del paciente y su familia, la contención y el respeto por su dignidad. Remarcamos la necesidad de fortalecer el servicio de internación domiciliar del sistema de salud pública, para garantizar que todas las personas puedan acceder a su derecho de manera digna y respetada.

Actualmente, el paciente se encuentra con internación domiciliar pediátrica, con un seguimiento cercano de su estado físico, con el objetivo de otorgarle la mejor calidad de vida posible en su estado terminal.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACEUTICAS
PRACTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA
2025

Importancia de las fichas epidemiológicas en el diagnóstico de dengue

AUTORAS: Aguzzi Victorina y Ferrini María Celeste.

TUTORA: Martinez Carolina.

INSTITUCIÓN: Sala 9 SIEBE - Hospital Centenario.

1. PRESENTACIÓN

Durante la realización de nuestras Prácticas Profesionales Obligatorias de la carrera de Bioquímica, cada una de nosotras ha rotado por cuatro de las diferentes áreas de Sala 9 en el Hospital Provincial del Centenario. La primera de ellas fue SIEBE, donde realizamos la recepción de muestras y pacientes para la realización de diferentes estudios.

En nuestro paso por dicha área, observamos una elevada demanda de test diagnósticos para la detección del virus del Dengue, ya que estábamos atravesando un brote activo de esta enfermedad. Esta situación despertó nuestro interés por profundizar en el abordaje epidemiológico de la enfermedad, particularmente en lo que respecta a la notificación de casos sospechosos. Como se menciona más adelante, el diagnóstico clínico de esta virosis debe estar acompañado por el correcto llenado de una ficha epidemiológica, la cual permite registrar y notificar los casos al Ministerio de Salud. Durante la revisión de estas fichas, identificamos numerosas deficiencias en su completación por parte del personal de salud, así como una gran variedad de formatos disponibles. Estas observaciones motivaron el desarrollo del presente trabajo.

2. MARCO TEÓRICO

El dengue es una enfermedad viral transmitida por la picadura de mosquitos *Aedes aegypti*, y en menor medida *Aedes albopictus*, quienes también transmiten el virus del Zika y del Chikungunya. Estas enfermedades se han incrementado tanto en incidencia como en distribución geográfica en el último tiempo.

El vector es un mosquito doméstico, que se reproduce en cualquier recipiente que contenga agua, donde las hembras depositan sus huevos. Por ello, el principal método de prevención es el descacharreo, la fumigación y el uso de productos repelentes, aunque actualmente también existe vacuna para la enfermedad, principalmente para prevenir el desarrollo de síntomas graves.

El dengue suele ser más común en entornos tropicales y subtropicales, a menudo en zonas urbanas y semiurbanas, sobre todo en épocas de lluvia. En relación a esto, también se puede observar que tiene un comportamiento

estacionario, es decir, en el hemisferio Sur la mayoría de los casos ocurren durante la primera mitad del año (meses de verano y otoño). Actualmente en nuestro país este patrón de comportamiento se ve alterado ya que es posible observar presencia de infección en meses fríos y secos.

Esta enfermedad constituye un evento de notificación obligatoria (ENO), por lo que la totalidad de los casos sospechosos deben ser notificados inmediatamente a través del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS 2.0) realizando una completa investigación epidemiológica. La implementación de estas medidas a nivel regional es fundamental para tener una mayor comprensión del comportamiento y evolución de esta enfermedad en el país y, además, anticipar estrategias de prevención y control adecuadas.

Cabe aclarar que, según el Ministerio de Salud de la República Argentina, se define como caso sospechoso a *“toda persona que viva o haya viajado en los últimos 14 días previos al inicio de los síntomas a zonas con transmisión de dengue o presencia del vector, y presenta fiebre aguda, habitualmente de 2 a 7 días de evolución, y dos o más de las siguientes manifestaciones: náuseas o vómitos, exantema, cefalea o dolor retro orbitario, mialgia o artralgia, petequias o prueba de torniquete positiva (+), leucopenia con o sin cualquier signo de alarma o manifestación de gravedad.”*

Dicho reporte se hace a través de fichas epidemiológicas que deben ser completadas por el médico solicitante. A continuación se deja disponible el acceso a los modelos otorgados tanto por el Gobierno Provincial como por el Gobierno Nacional, a partir de los cuales se sentaron las bases de este trabajo.

Modelo del Gobierno Provincial: <https://share.google/Qjr6w99UiGsasZbC1>

Modelo del Gobierno Nacional: <https://share.google/WnOXBIZS7H6NArSfg>

Es de suma importancia que la ficha se complete en su totalidad, con letra clara, y que no se omita ningún dato relevante. En base a los datos que el médico brinda, el laboratorio va a definir qué prioridad se le va a dar a la muestra y cómo proseguir con el algoritmo de diagnóstico, dado que, las técnicas a utilizar para la

detección de la enfermedad dependen de los días de evolución que presente cada paciente en particular.

- 1 a 3 días de evolución: NS1 por ELISA, qRT-PCR, aislamiento viral. Estos son métodos directos y confirmatorios, con el objetivo de proveer al sistema de vigilancia con información de certeza para un alerta temprano para la implementación de rápidas medidas de prevención.
- 4 a 6 días de evolución: NS1 por ELISA, qRT-PCR, aislamiento viral, IgM por ELISA (tener en cuenta que los anticuerpos IgM pueden permanecer por más de 3 meses)
- 7 días de evolución o más: IgM por ELISA, neutralización en cultivos celulares en par serológico (con muestras tomadas con 10 a 15 días de diferencia para confirmar circulación viral al evidenciar la seroconversión de anticuerpos tipo IgG)
- En los casos con sintomatología compatible de dengue pero que cuentan con antecedentes de vacunación dentro de los 30 días inclusive de la última dosis de vacuna, no deben realizarse estudios de diagnóstico etiológico, a excepción de los casos graves o fatales.
- Los test rápidos sólo se recomiendan como herramienta para la vigilancia epidemiológica en zonas con circulación viral, de lo contrario podrían aparecer falsos negativos y en esta etapa se requiere la aplicación de técnicas con la mayor sensibilidad. En estos casos, los mismos deben ser considerados como una herramienta de tamizado empleada dentro del algoritmo propuesto para el diagnóstico y se recomienda, además, la corroboración por otro método de un porcentaje de los resultados positivos y negativos que se emitan.

Asimismo, hay datos epidemiológicos que son relevantes para que el Ministerio de Salud tome medidas con respecto a la sanidad y al aislamiento de casos sospechosos para evitar la propagación de la enfermedad.

Una vez realizados los estudios pertinentes y habiendo obtenido un resultado para el diagnóstico del paciente, se deben notificar todos los casos sospechosos con sus respectivos resultados al Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA). El SISA tiene como finalidad recopilar y monitorear la información

relacionada con la salud en la República Argentina, con el propósito de optimizar la toma de decisiones por parte de los distintos actores del sistema de salud, en beneficio de la atención brindada a los ciudadanos. El acceso al sistema está limitado a instituciones de referencia que cumplan con los requisitos establecidos en su reglamento. Los usuarios autorizados deben utilizar el sitio y su información de forma responsable y confidencial, asumiendo las responsabilidades legales correspondientes en caso de incumplimiento.

3. RESULTADOS

Durante el período en que desarrollamos nuestras prácticas en SIEBE, se reportaron un total de 54 casos sospechosos de dengue. A cada uno de estos casos se les solicitó la correspondiente prueba diagnóstica, junto con el llenado de la ficha epidemiológica establecida.

Tal como se mencionó en la introducción de este trabajo, se observó de forma recurrente que muchas de estas fichas no se encontraban correctamente completadas, presentando una notable falta de datos relevantes. Esta situación motivó la necesidad de realizar un análisis detallado de los distintos apartados de la ficha epidemiológica, tomando como referencia el modelo utilizado por el Gobierno de la Provincia de Santa Fe. Posteriormente, se llevó a cabo una comparación con el modelo propuesto por el Gobierno Nacional, con el objetivo de identificar similitudes, diferencias y posibles áreas de mejora.

Análisis de la Ficha Epidemiológica Provincial

1. **Identificación del paciente:** En la mayoría de las fichas, los datos personales estaban correctamente completados. Sin embargo, en algunos casos se observó la ausencia del domicilio real del paciente, registrándose únicamente el domicilio legal, lo que puede dificultar el rastreo y seguimiento epidemiológico.
2. **Datos clínicos y epidemiológicos:** Se detectó una omisión frecuente de información clave, como la presencia de comorbilidades, condición de embarazo, o antecedentes relevantes. Estos datos son fundamentales para la evaluación del riesgo y la toma de decisiones clínicas. Cabe destacar que el

dato de si la persona está embarazada es actualmente relevante ya que se está investigando si la virosis puede causar algún tipo de comorbilidad en feto o en el recién nacido.

3. **Datos clínicos (síntomas):** Generalmente se consignaron la fecha de inicio de síntomas y los signos clínicos presentes. No obstante, en la mayoría de las fichas no se completó el apartado referido a la presencia de signos de alarma, lo cual representa información importante en el seguimiento del caso.
4. **Datos epidemiológicos:** Se evidenció una omisión sistemática de datos como la ocupación del paciente, contacto con animales o exposición a aguas contaminadas. Asimismo, los antecedentes vacunales eran frecuentemente incompletos, y en algunas versiones más antiguas de la ficha provincial ni siquiera figuraba este apartado, indicando una desactualización del instrumento.
5. **Sospecha clínica:** Este apartado fue, en general, correctamente completado en la mayoría de los casos revisados.
6. **Datos de laboratorio e imágenes:** Aunque estas secciones no suelen estar completas en las fichas, esta omisión se justifica parcialmente por el hecho de que los estudios suelen realizarse de forma simultánea con el diagnóstico de dengue en el laboratorio, por lo que los resultados pueden no estar disponibles al momento de completar la ficha.
7. **Datos del informante:** En la mayoría de los casos, esta sección se encontraba completa, lo que resulta útil para establecer contacto con el profesional tratante si fuera necesario.
8. **Solicitud de plasma inmune:** Esta sección no fue evaluada, ya que no se encuentra directamente relacionada con la temática del dengue, foco principal del presente trabajo.

Comparación con el Modelo Nacional

1. **Definición del caso sospechoso:** A diferencia del modelo provincial, el formulario nacional inicia con la definición explícita del caso sospechoso.
2. **Identificación del paciente:** El modelo nacional incluye categorías más amplias y actualizadas, tales como sexo legal, sexo al nacer, identidad de

género y etnia, lo que evidencia una perspectiva más inclusiva y acorde con los lineamientos actuales de salud pública.

3. **Información clínica:** Se incorpora la opción explícita de si el paciente estuvo internado, si es una persona gestante (aunque sin una opción clara para responder sí o no), si consultó previamente, y si recibió tratamiento antes de la toma de muestra. Estas variables no están contempladas en el modelo provincial.
4. **Signos, síntomas y antecedentes clínicos:** El modelo nacional ofrece una lista más extensa y detallada de síntomas posibles, así como un apartado específico para antecedentes de enfermedades previas y comorbilidades, con opciones predefinidas, a diferencia del modelo provincial que solo incluye un espacio abierto para escribir.
5. **Datos de laboratorio:** No se observaron diferencias significativas en esta sección entre ambos modelos.
6. **Datos de internación:** El modelo nacional es más detallado, incluyendo información como internación en terapia intensiva y datos del médico tratante.
7. **Muestras para diagnóstico etiológico:** Este apartado está presente únicamente en el modelo nacional y permite registrar fecha de toma de muestra, tipo de muestra y establecimiento donde se realizó el procedimiento.
8. **Sospecha clínica epidemiológica:** Se ofrecen más opciones de diagnósticos diferenciales, en concordancia con la vigilancia a nivel nacional.
9. **Epidemiología:** Se contempla la posibilidad de identificar el caso como autóctono, importado o en investigación, así como si forma parte de un monitoreo en curso, opciones que no están incluidas en el modelo provincial.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Uno de los datos requeridos al inicio de un brote activo es el domicilio real y actualizado del paciente. Esta información permite implementar acciones sanitarias focalizadas, como fumigación, control vectorial y búsqueda de casos sospechosos en la zona. La falta de precisión en este campo puede tener implicancias en la organización de la respuesta epidemiológica.

Asimismo, la información epidemiológica, como el historial de vacunación, se utiliza tanto para orientar el diagnóstico clínico como para seleccionar los métodos de detección. En pacientes vacunados contra el dengue, las pruebas serológicas basadas en anticuerpos pueden arrojar resultados falsamente positivos, ya que no distinguen entre anticuerpos generados por la vacuna y los producidos por una infección natural. Por este motivo, el registro del estado de vacunación adquiere relevancia para la interpretación diagnóstica. En las fichas analizadas, este campo no se encontraba completo en todos los casos.

Respecto a las comorbilidades, el modelo nacional incorpora una lista predefinida de condiciones. Si bien esto extiende la longitud de la ficha, esta organización está destinada a estructurar el registro de la información. Este dato se requiere, por ejemplo, en pacientes inmunodeprimidos, ya que la detección de anticuerpos puede no ser la metodología más sensible, siendo más utilizadas en esos casos las técnicas moleculares. De manera similar, la opción de indicar si la paciente está cursando un embarazo (presente en ambos modelos, aunque con una disposición más visible en el provincial) se vincula con no solo con los estudios de investigación antes mencionados, sino también con la prioridad que se le va a dar al diagnóstico.

En la sección de “Datos clínicos”, se observa que la fecha de inicio de los síntomas fue consignada en casi todos los casos, con excepción de uno. Este dato se utiliza para determinar la elección entre métodos diagnósticos moleculares o serológicos.

Por otro lado, se identificó que las secciones de “Datos de laboratorio” e “Imágenes” no suelen estar completas debido a que la información correspondiente no está disponible al momento de completar la ficha. Estas secciones corresponden a etapas posteriores al llenado inicial del formulario o se realizan simultáneamente con la prueba diagnóstica. En algunos casos, cuando estos datos están presentes, pueden ser considerados en la interpretación de los resultados o en la evaluación de diagnósticos diferenciales.

Con respecto al modelo nacional, su diseño incluye una serie de categorías como sexo legal, sexo al nacer, identidad de género y etnia. Estos datos son

utilizados en distintos contextos sanitarios, pero no están directamente relacionados con el diagnóstico o la vigilancia del dengue. La incorporación de estos campos requiere capacitación específica del personal de salud para su correcta implementación.

En relación con la internación del paciente, el modelo nacional incorpora una sección específica para registrar si el paciente está internado, si requiere cuidados intensivos y quién es el médico tratante. En contraste, en el modelo provincial, la ausencia de la fecha de internación puede interpretarse como que el paciente no está internado, pudiendo ser en realidad un dato faltante. Esta estructura busca sistematizar el registro de dicha información, que se utiliza en procesos de vigilancia y gestión clínica.

En cuanto a la sección de “Muestras para el diagnóstico etiológico”, presente únicamente en el modelo nacional, los datos solicitados (fecha, tipo de muestra, establecimiento de origen) no suelen utilizarse en la carga inicial del caso. La forma en la que se identifica el tipo de muestra en el laboratorio es mediante el tubo y el color de tapa.

Por último, el modelo nacional incluye la opción de especificar si el caso es autóctono, importado o en investigación. Esta clasificación se relaciona directamente con las medidas de control y prevención adoptadas por las autoridades sanitarias, ya que permite diferenciar los operativos territoriales según el origen del caso.

5. PERSPECTIVAS

A partir del análisis realizado, consideramos que uno de los principales desafíos en el uso de las fichas epidemiológicas es la extensión y complejidad de su formato, lo cual puede impactar negativamente en su llenado por parte del personal de salud. En este sentido, creemos necesaria una revisión estructural de la ficha, orientada a optimizar su contenido sin comprometer la calidad de la información recolectada.

En primer lugar, se sugiere reducir o eliminar aquellas secciones que presentan escasa relevancia en la etapa inicial de carga, como “Imágenes”, “Datos de laboratorio” y “Solicitud de plasma inmune”. Si bien estos apartados pueden

adquirir importancia en fases posteriores del abordaje clínico, no resultan imprescindibles para la notificación inmediata de un caso sospechoso. Del mismo modo, la sección “Muestras para el diagnóstico” del modelo nacional podría considerarse redundante, dado que la identificación del tipo de muestra suele realizarse mediante el color y tipo de tapa del tubo, lo cual contribuye a una extensión innecesaria de la ficha y puede volver el proceso más engorroso. La síntesis del formulario podría favorecer un completado más preciso de las secciones que sí son clave a la hora del diagnóstico y la toma de decisiones epidemiológicas, tales como los datos de identificación, antecedentes, datos clínicos, internación y epidemiología.

Asimismo, la unificación del formato de ficha a nivel provincial o nacional aparece como una necesidad prioritaria. La coexistencia de múltiples modelos, con estructuras y terminologías diferentes, genera confusión, retrasa el proceso de llenado y aumenta el riesgo de errores por omisión o duplicación de información. Un modelo único, actualizado y estandarizado, facilita la familiarización del personal de salud con el instrumento.

Por otro lado, es importante destacar que el llenado de fichas suele ser percibido por parte del personal de salud como una tarea secundaria o simplemente burocrática, especialmente en contextos de alta demanda o crisis sanitaria. Lo que puede traducirse como una subvaloración de la importancia de la ficha y resultar en una mayor tasa de omisiones. Por ello, podrían implementarse instancias de capacitación interdisciplinarias dirigidas al personal encargado del registro, con el objetivo de reforzar el conocimiento sobre la importancia de cada dato recolectado, tanto desde el punto de vista clínico como epidemiológico. Conocer el impacto que tiene cada variable sobre el diagnóstico, el tratamiento y la vigilancia puede motivar un cambio en la actitud frente a la tarea, mejorando así la calidad de los datos reportados.

En conclusión, optimizar el uso de la ficha epidemiológica implica revisar su estructura y promover la relevancia del registro consciente, a través de la formación, la actualización permanente y la comprensión del rol central que estas herramientas cumplen en la salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (20 de febrero de 2025). Salud recomienda fortalecer la vigilancia de dengue debido al aumento de casos en la región.
<https://www.argentina.gob.ar/noticias/salud-recomienda-fortalecer-la-vigilancia-de-dengue-debido-al-aumento-de-casos-en-la-region>
2. Iglesias, N. G., Irusta, P. M., Bonaventura, R., Docena, G. H., & Gamarnik, A. V. (2024). Dengue pathogenesis: A multidisciplinary review of host and viral factors. *Virus Research*, 336, 199277.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2024.199277>
3. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (s.f.). Condiciones de uso, intercambio y confidencialidad del SISA.
<https://www.argentina.gob.ar/salud/digital/uso-sisa>
4. Ministerio de Salud de la Nación Argentina. (2024). Guía para la vigilancia de dengue y otros arbovirus.
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/10/guia-vigilancia-dengue-otros-arbovirus-11-2024_0.pdf
5. Ministerio de Salud de la Nación Argentina, Epidemiología. (s.f.). Fichas de recolección de datos para la notificación.
<https://www.argentina.gob.ar/salud/epidemiologia/fichas>



IMPORTANCIA DE LAS FICHAS EPIDEMIOLOGICAS EN EL DIAGNOSTICO DE DENGUE



Aguzzi, Victorina¹; Ferrini, M. Celeste¹; Martínez, Carolina²

¹Facultad de Cs Bioquímicas y Farmacéuticas - UNR ²SIEBE - Sala 9 - Hospital Provincial Centenario

Introducción

El dengue constituye un evento de notificación obligatoria (ENO), por lo que la totalidad de los **casos sospechosos** deben ser notificados inmediatamente a través del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS 2.0) realizando una completa investigación epidemiológica, con el objetivo de tener una mayor comprensión del comportamiento y evolución de esta enfermedad en el país y anticipar estrategias de prevención y control adecuadas. Según el Ministerio de Salud de la República Argentina, se define como caso sospechoso:

"toda persona que viva o haya viajado en los últimos 14 días previos al inicio de los síntomas a zonas con transmisión de dengue o presencia del vector, y presenta fiebre aguda, habitualmente de 2 a 7 días de evolución, y dos o más de las siguientes manifestaciones: náuseas o vómitos, exantema, cefalea o dolor retro orbitario, mialgia o artralgia, petequias o prueba de torniquete positiva (+), leucopenia con o sin cualquier signo de alarma o manifestación de gravedad."

Dicho reporte se hace a través de **fichas epidemiológicas** que deben ser completadas por el médico solicitante.

Resultados

54 **casos sospechosos** de dengue: a cada uno se les solicitó la correspondiente prueba diagnóstica, junto con el llenado de la ficha

NO SE ENCONTRABAN CORRECTAMENTE COMPLETADAS, PRESENTANDO UNA NOTABLE FALTA DE DATOS RELEVANTES

Modelo provincial

1. **Identificación del paciente:** la mayoría correctos, falta domicilio real
2. **Datos clínicos y epidemiológicos:** omisión de antecedentes, embarazo o comorbilidades
3. **Datos clínicos:** la mayoría completa, ausencia de identificación de signos de alarma
4. **Datos epidemiológicos:** frecuente exclusión de vacunas, ocupación, contacto con animales
5. **Sospecha clínica:** generalmente completos
6. **Datos de laboratorio e imágenes:** suelen realizarse en simultáneo al pedido del testeo
7. **Datos del informante:** usualmente correctos

Modelo nacional

1. **Definición del caso sospechoso**
2. **Identificación del paciente:** categorías más amplias y actualizadas, perspectiva inclusiva
3. **Información clínica:** opciones explícitas de internación, embarazo y tratamiento
4. **Signos, síntomas y antecedentes clínicos:** lista más extensa y detallada de síntomas y antecedentes
5. **Datos de laboratorio:** sin diferencias significativas
6. **Datos de internación:** más detallado
7. **Muestras para diagnóstico etiológico:** fecha, tipo de muestra; únicamente en este modelo
8. **Sospecha clínica epidemiológica:** más opciones de diagnósticos diferenciales
9. **Epidemiología:** permite identificar caso autóctono, importado o en investigación

Santa Fe | Ministerio de Salud

FICHA DE INVESTIGACION DE SINDROME FEBRILES

Conservar el correspondiente a un caso bajo protocolo de estudio: SI ☐ NO ☐

1. IDENTIFICACION DEL PACIENTE

Apellido y nombre: _____

Fecha de nacimiento: ____/____/____ Edad: ____ Sexo: M ☐ F ☐ DNI: _____

Domicilio actual: _____ Tel. propio o vecino: _____

Localidad: _____ Urbano ☐ Rural ☐ Provincia: _____

2. DATOS CLINICOS Y EPIDEMIOLOGICOS

Fecha de la consulta: ____/____/____ Efector de atención ambulatoria: _____

Fecha de internación: ____/____/____ Efector de internación: _____

Fallecido: No ☐ Si ☐ Fecha defunción: ____/____/____ Contacto: No ☐ Si ☐ Nombre contacto: _____

Embarazado: NO ☐ SI ☐ Semena de gestación: _____

Comorbilidades: _____

DATOS CLINICOS

Fecha inicio de la fiebre: ____/____/____

Fiebre ☐ Cefalea intensa ☐ Dolor retroocular ☐ Mialgias ☐ Artralgias ☐

Rash/erupción ☐ Petequias ☐ Hemorragia gastrointestinal ☐ Otros signos hemorrágicos ☐

Náuseas-vómitos ☐ Diarrea ☐ Dolor abdominal/abdomen agudo ☐ Hepatomegalia ☐

Adenopatías ☐ Shock ☐ Trastornos/otros síntomas respiratorios ☐ Asintomatismo ☐

Con signos de alarma ☐ Sin signos de alarma ☐

DATOS EPIDEMIOLOGICOS

Ocupación: _____ Lugar de trabajo: Urbano ☐ Periurb ☐ Rural ☐ Silvestre ☐

Antecedente de viaje reciente últimos 15 días a área con transmisión de dengue, fiebre amarilla o paludismo? NO ☐ SI ☐ Localidad/Provincia: _____

Antecedente de contacto con animales: ratas/tuachas ☐ perros ☐ vacas/cerdos/caballos/ovejas ☐ ninguno ☐

Antecedente de contacto con agua de: cloacas/servidas ☐ arroyos/leguachos ☐ inundación/asegamiento ☐

Tuvo dengue antes? No ☐ Si ☐ Fecha: ____/____/____ Serotipo: _____ Ignora ☐

ANTECEDENTES DE VACUNACION (señalar con X)

Antiamarilla: NO ☐ SI ☐ IGNORA ☐ Última fecha de vacunación: ____/____/____

Fiebre Hemorrágica Argentina: NO ☐ SI ☐ IGNORA ☐ Última fecha de vacunación: ____/____/____

Vacuna contra el Dengue: NO ☐ SI ☐ IGNORA ☐ Última fecha de vacunación: ____/____/____

3. SOSPECHA CLINICA EPIDEMIOLOGICA

Paludismo ☐ Dengue ☐ Fiebre Amarilla ☐ Leptospirosis ☐ FNA ☐ Hantavirus ☐ Otros: _____

4. DATOS DE LABORATORIO

Ha sido transfundido? SI ☐ No ☐

Hematócrito: _____ Recuento Blancos: _____ Neutrófilos: _____ % Recuento Plaquetas: _____ VES: _____

Ureemia: _____ mg/dl Creatinina: _____ mg/dl Bilirrubina directa: _____ g/dl TGP: _____ U/L TGO: _____ U/L FA: _____ U/L

Recibió antibióticos? No ☐ SI ☐ Cuál? _____

Fecha de la 1ª muestra: ____/____/____ Resultado: _____ Método: _____

Fecha de la 2ª muestra: ____/____/____ Resultado: _____ Método: _____

5. IMAGENES

Rayos X: No ☐ SI ☐ Descripción: _____

Ecografía: No ☐ SI ☐ Descripción: _____

6. DATOS DEL INFORMANTE

Provincia: _____ Departamento: _____ Localidad: _____

Establecimiento Notificante: _____ Fecha de Notificación: ____/____/____

Nombre del Profesional: _____ Tel.: _____ e-mail: _____

Ficha de investigación de Síndromes Febriles, modelo del Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe.

Conclusiones

La calidad de la información brindada mediante la ficha epidemiológica condiciona la posterior toma de decisiones. Datos fundamentales como la **fecha de inicio de los síntomas**, la **vacunación**, las **comorbilidades** o el **embarazo** orientan la elección de métodos diagnósticos y la interpretación de sus resultados, así como la toma de decisiones de control epidemiológico, pero con frecuencia llegan incompletos o con criterios que varían entre los dos modelos. Mientras que el modelo nacional incorpora variables como sexo, género, etnia y la clasificación epidemiológica del caso, el modelo provincial brinda menos detalle, especialmente en lo referido a **internación**, donde la ausencia de registro de la fecha puede llevar a interpretar que el paciente no está internado.

En conjunto, estas diferencias y vacíos evidencian la necesidad de estandarizar y priorizar la carga de información para asegurar diagnósticos coherentes y medidas de control oportunas.

Perspectivas

1. Extensión y complejidad

La ficha es extensa y compleja, lo que dificulta su completado; se propone revisarla para simplificarla sin perder calidad de información.

2. Necesidad de un modelo unificado

La coexistencia de fichas distintas (provincial y nacional) genera confusión y errores; un modelo único y estandarizado facilitaría el uso y disminuiría fallas.

3. Percepción del personal de salud y necesidad de capacitación

El llenado suele verse como burocrático, lo que aumenta omisiones; se proponen capacitaciones para reforzar la importancia clínica y epidemiológica de cada dato y mejorar la calidad del registro.

Optimizar la ficha requiere **revisar su estructura** y promover un registro consciente, mediante **formación y actualización continua**, destacando su rol central en salud pública.



Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas
Práctica Final Obligatoria
2025

Aplicación de ROTEM en cirugía cardiovascular pediátrica

Autoras:

Hereñu, Corina

De Luca, Julieta

Tutora: Bioq. Daniela Bonavita

Institución de rotación: Laboratorio Sanatorio Parque

PRESENTACIÓN

Paciente de 6 meses de edad con Síndrome de Down, que presenta una comunicación interventricular (CIV), la cual desencadenó signos clínicos compatibles con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), incluyendo taquipnea, dificultad para la alimentación y escaso aumento de peso. Debido a lo descrito anteriormente, se decidió mediante junta médica interdisciplinaria realizar una intervención quirúrgica de corrección del canal A-V.

Tras la intervención, la paciente persiste con disfunción ventricular izquierda e hipertensión pulmonar severa, refractaria al tratamiento convencional indicado para la patología. Motivo por el cual se resolvió la conexión a oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO veno-arterial) como medida de soporte vital.

A partir de este momento, se comenzó la evaluación del estado hemostático de la paciente mediante el uso de ROTEM, lo cual será analizado en este trabajo.

MARCO TEÓRICO

- Patologías asociadas al Síndrome de Down en recién nacidos:

El síndrome Down (SD) es la anomalía cromosómica más frecuente en los seres humanos, producida por la presencia de una copia extra del cromosoma 21. Constituye la causa genética más frecuente de retardo mental. Su incidencia es de 1 en 660 nacidos vivos, siendo menor en aquellos países en donde se realiza el diagnóstico prenatal.

Las características clínicas habituales son déficit intelectual variable y a menudo leve, hipotonía muscular casi constante y laxitud articular, que se asocian a un fenotipo característico.

Las malformaciones que se asocian al SD con mayor frecuencia son: las cardiopatías congénitas (40%), seguidas de las anomalías del tracto digestivo (12%) y anomalías de cadera (8%). Otros problemas asociados incluyen: talla baja, catarata congénita, deficiencias sensoriales, patologías autoinmunes y endocrinas (hipotiroidismo, intolerancia al gluten, diabetes, alopecia), leucemia, enfermedad de Hirschsprung, convulsiones, síndrome de West, apnea del sueño, envejecimiento prematuro y enfermedad de Alzheimer.

El diagnóstico prenatal es posible a través de la evaluación de marcadores ecográficos siendo el más conocido, la medición de la translucencia nuchal en el primer trimestre de gestación. El diagnóstico confirmatorio se realiza con el estudio de cariotipo en vellosidades coriales, líquido amniótico, sangre o piel.

- **La comunicación interventricular (CIV):**

La anatomía de ésta malformación está dada por el sitio donde se encuentre en el tabique interventricular. Se trata de una comunicación entre el ventrículo izquierdo y el derecho de tipo membranoso, en la cual se ha formado un tejido aneurismático y que involucra la valva septal de la tricúspide, permitiendo una comunicación hacia la aurícula derecha. Un 5% de las comunicaciones interventriculares se asocia con insuficiencia aórtica, sobre todo las supraventriculares y las perimembranasas. Otro 5% se asocia con obstrucción del tracto de salida del ventrículo derecho, ya sea en la modalidad de hipertrofia de la banda septal o de la porción infundibular.

La fisiología de la comunicación interventricular está dada por la relación de las resistencias pulmonares y las sistémicas. Entre más resistencias pulmonares menos flujo pasará por el circuito pulmonar y a la inversa.

El estado clínico depende principalmente del tamaño del defecto, el estado de la vasculatura pulmonar y la variación de ambos parámetros con la edad.

La historia clínica empieza con la detección de un soplo grado III o más desde la época de lactante. Habitualmente, después de la tercera semana de edad, aparece un soplo que no se había detectado antes. Este soplo se hace más intenso en los tres primeros meses de vida cuando disminuyen aún más las resistencias vasculares pulmonares y aumenta el flujo a través de la comunicación. La anemia fisiológica que aparece en el lactante alrededor de los dos meses y medio contribuye también a la presencia de un mayor flujo por el circuito pulmonar. Cuando el flujo es muy excesivo se produce insuficiencia cardíaca por sobrecarga de volumen del ventrículo izquierdo, no sucediendo así cuando el flujo es moderado o muy poco. Estos niños cursan con cuadros bronquiales a repetición y falla para progresar. La explicación de estos cuadros respiratorios, en ausencia de infección, es que posiblemente hay un edema pulmonar.

- **Oxigenación con membrana extracorpórea (ECMO):**

La asistencia circulatoria mecánica (ACM) es una forma de soporte vital, que permite aportar oxígeno a los tejidos en pacientes con insuficiencia cardíaca y/o respiratoria refractarios a los tratamientos convencionales. La oxigenación con membrana extracorpórea (ECMO) y la asistencia ventricular (VAD) son formas de ACM que se utilizan en enfermedad cardíaca y/o respiratoria. La ECMO es una adaptación del sistema de circulación

extracorpórea utilizada durante la cirugía cardiovascular, que permite brindar soporte cardiopulmonar durante un periodo más prolongado (días o semanas), mediante la canulación venosa, el paso de la sangre por un oxigenador y la canulación arterial que entrega sangre oxigenada a la aorta. La VAD solo contribuye con sostén hemodinámico por lo que requiere adecuada función pulmonar y puede ser de tipo izquierdo, derecho o biventricular.

El uso más frecuente de la ACM en cirugía de cardiopatías congénitas es en el postoperatorio. Además puede ser de utilidad en otras cardiopatías no quirúrgicas para dar sostén hemodinámico hasta su recuperación. En cualquiera de estos escenarios el objetivo es optimizar la condición del paciente tratando de prevenir el fallo multiorgánico. Es un tratamiento invasivo y complejo, que requiere personal altamente entrenado durante todo el procedimiento, y se aplica en pacientes en los que ha fallado el tratamiento convencional y en los que la insuficiencia cardíaca y/o respiratoria sea potencialmente reversible.

La complicación más común de la oxigenación por membrana extracorpórea es el sangrado. Esto se debe a que se bombea heparina al circuito ECMO para evitar la formación de trombos. El sangrado ocurre con mayor frecuencia alrededor de los sitios de la cánula de ECMO u otros sitios quirúrgicos en el cuerpo. Sin embargo, es posible que se produzca un sangrado a nivel sistémico debido a la dosis de heparina que se necesita para mantener el circuito óptimo de circulación. Por lo tanto, el equipo de ECMO debe ser constantemente monitoreado y evaluar si hay signos de sangrado.

- Equipo ROTEM delta:

El sistema de tromboelastometría ROTEM® delta brinda una indicación cualitativa y cuantitativa del estado de la coagulación de una muestra sanguínea. Registra los cambios cinéticos del coágulo en una muestra de sangre entera citratada sin centrifugar. Mide la resistencia mecánica generada por un coágulo en formación en una muestra que oscila levemente, y la traduce en un gráfico temporal llamado temograma, el cual describe la interacción entre diversos componentes de la hemostasia (factores de la coagulación, fibrinógeno, plaquetas, y el sistema de fibrinólisis).

Este equipo permite un diagnóstico rápido para optimizar el tratamiento de la sangre del paciente en cirugías mayores y hemorragia traumática. Se utiliza para definir tratamientos hemostáticos en sangrados críticos en cirugías cardiovasculares con circulación

extracorpórea, trasplantes, politraumas callejeros, hemorragias post parto y sangrados severos perioperatorios en general.

Debajo de cada temograma se muestra un parámetro con su rango de referencia y cuando el valor del paciente está fuera del mismo se resaltaré en color rojo. Para una correcta interpretación de la información que se brinda en pantalla se pueden considerar ciertos parámetros:

- CT: es el tiempo de coagulación. Evalúa la actividad de los factores de coagulación.
- A5: es la amplitud o firmeza del coágulo cinco minutos después del CT, indica el aporte inicial de plaquetas y fibrinógeno.
- MCF: es la firmeza máxima alcanzada por el coágulo.
- ML: es el porcentaje de reducción en la firmeza del coágulo en el momento reportado, evalúa la presencia de hiperfibrinólisis.

ROTEM realiza pruebas simultáneas con diversas combinaciones de reactivos que permiten llegar al diagnóstico diferencial:

- EXTEM: Proporciona una rápida evaluación de la formación del coágulo, la polimerización de la fibrina y de la fibrinólisis por activación de la vía extrínseca. Utilizado en coagulopatías generales.
- INTEM: Es útil para detectar inhibidores de la vía intrínseca o anticoagulantes como heparina no fraccionada.
- FIBTEM: Posibilita la detección hipofibrinogenemia o disfunción del fibrinógeno.
- APTTEM: Permite confirmar hiperfibrinólisis y ayudar a determinar la potencial eficacia del tratamiento antifibrinolítico.
- HEPTTEM: Puede detectar una diferencia entre coagulopatía verdadera y anticoagulación por heparina.

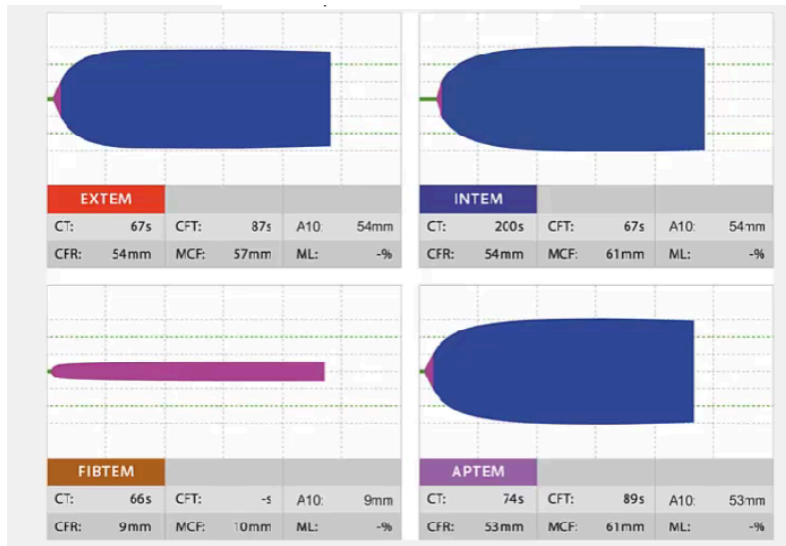


Figura 1. Valores de CT y parámetros de firmeza A10 y MCF dentro del rango normal. Sin evidencia de hiperfibrinólisis.

- **Aplicación clínica de ROTEM en cirugías cardiovasculares con circulación extracorpórea:**

Este tipo de intervenciones implica un alto riesgo de sangrado debido a múltiples factores que afectan la hemostasia, como hemodilución por cebado del circuito extracorpóreo, activación de la fibrinólisis y consumo de factores de coagulación, hipotermia y acidosis durante la intervención, una trombocitopatía adquirida o trombocitopenia, el uso inadecuado o excesivo de anticoagulantes como heparina y su posterior neutralización con protamina.

Para la aplicación clínica se proponen algoritmos que se basan en la interpretación secuencial de las pruebas INTEM, HEPTM, EXTEM y FIBTEM evaluando tres ejes:

- Efecto residual de heparina: comparando CT en INTEM y HEPTM, si CT está prolongado en INTEM pero normal en HEPTM, hay efecto residual de heparina no neutralizada, siendo un indicador de sobredosificación de heparina o neutralización insuficiente con protamina.
- Hiperfibrinogenemia: evaluando A5 o MCF en FIBTEM, si A5 <7mm o MCF <9 mm indica fibrinógeno funcional bajo, indica insuficiente formación de red de fibrina.
- Disfunción plaquetaria o trombocitopenia: comparando MCF en EXTEM y en FIBTEM, si MCF en EXTEM <40 mm, pero MCF en FIBTEM es normal el problema es plaquetario, si ambos MCF están bajos el problema es combinado (fibrinógeno +

plaquetas). Si $A5_{\text{EXTEM}} - A5_{\text{FIBTEM}} < 30\text{mm}$, se infiere la necesidad de transfusión plaquetaria.

Los algoritmos proporcionados por el sistema han sido elaborados para la evaluación de pacientes adultos, por lo cual en los niños es el equipo médico el encargado de evaluar y readaptar los algoritmos a la hora de la interpretación de los mismos.

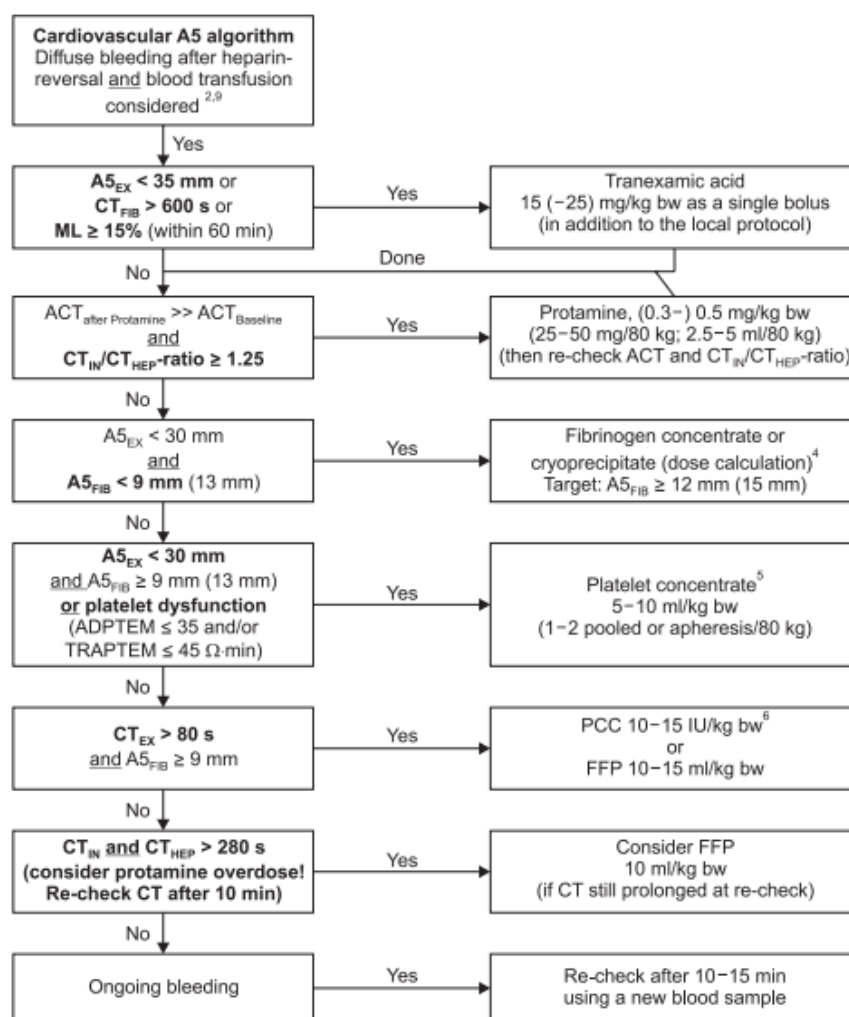


Figura 2. Algoritmos basados en la evidencia para el manejo del sangrado guiado por ROTEM en cirugía cardiovascular.

RESULTADOS

Luego de la intervención quirúrgica de la paciente y su posterior conexión a ECMO, se realiza ROTEM a las 18:35 hs. El cual, de acuerdo a los algoritmos desarrollados anteriormente, arroja alteración en la fibrinolisis por lo que se indica ácido tranexámico. La muestra es incoagulable por exceso de heparina por lo que se realiza dosis de protamina.

Además presenta laboratorio con plaquetopenia por lo que se indica transfusión de plaquetas.

	EXTEM	INTEM	FIBTEM	HEPTEM
RT	59 min	57 min	56 min	55 min
CT	--	--	--	968 s
CFT	--	--	--	1380 s
A5	--	--	--	8 mm
A10	--	--	--	13 mm
MCF	--	--	--	--
ML	0 %	0 %	0 %	0 %
LI30	--	--	--	100 %
< 20% Limite < 20% Limite > 20% Limite				

Tabla 1: Tromboelastometría 25-04-2025 18:35 hs.

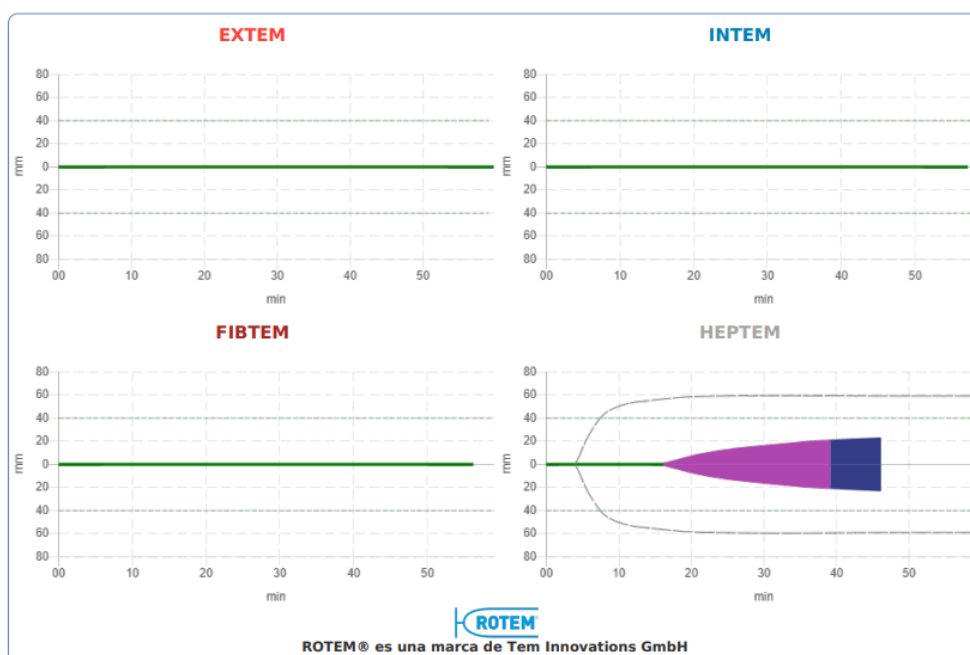


Figura 3: Trazado de temogramas 25-04-2025 18:35 hs.

A las 22:25 hs se solicita un nuevo ROTEM, arrojando los siguientes resultados:

	EXTEM	INTEM	FIBTEM	HEPTEM
RT	49 min	59 min	52 min	42 min
CT	59 s	246 s	57 s	198 s
CFT	177 s	147 s	--	142 s
A5	29 mm	30 mm	15 mm	32 mm
A10	40 mm	40 mm	16 mm	42 mm
MCF	50 mm	51 mm	16 mm	--
ML	1 %	0 %	1 %	0 %
LI30	100 %	100 %	100 %	100 %
< 20% Limite < 20% Limite > > 20% Limite				

Tabla 2: Tromboelastometría 25-04-2025 22:25 hs.

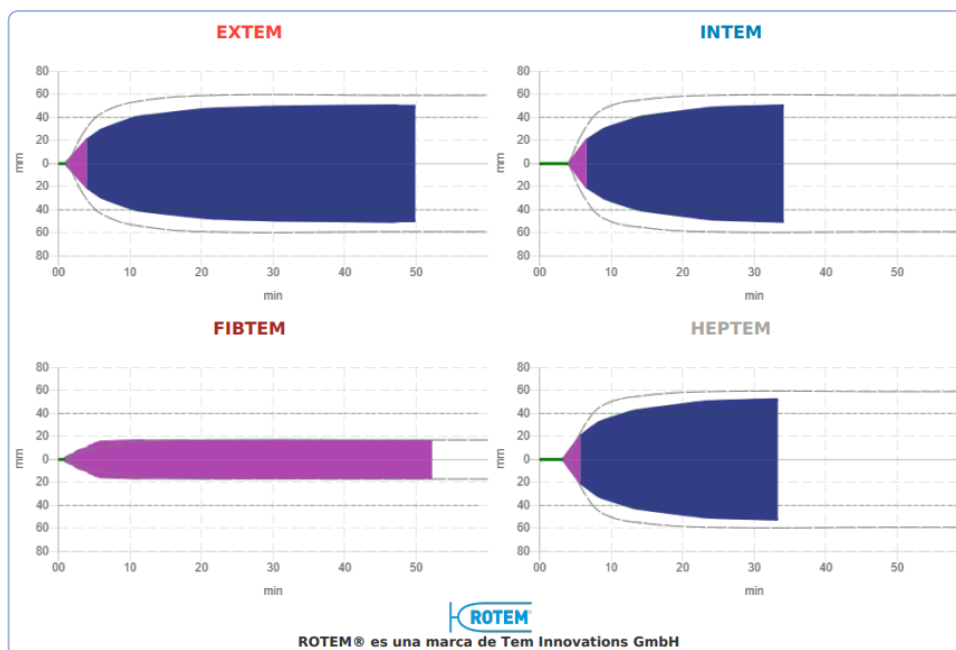


Figura 4: Trazado de temogramas 25-04-2025 22:25 hs.

Aquí se observa alteración de la fibrinólisis y alteración plaquetaria. Es por ello que se realiza nueva dosis de tranexámico, junto con transfusión de plaquetas y glóbulos rojos.

Al día siguiente se realiza un tercer ROTEM, cuyos parámetros son normales:

	EXTEM	INTEM	FIBTEM	HEPTEM
RT	55 min	54 min	53 min	52 min
CT	72 s	174 s	54 s	181 s
CFT	101 s	90 s	1308 s	86 s
A5	39 mm	41 mm	18 mm	42 mm
A10	50 mm	51 mm	19 mm	52 mm
MCF	59 mm	59 mm	19 mm	60 mm
ML	2 %	1 %	0 %	1 %
LI30	100 %	100 %	100 %	100 %
< 20% Limite < 20% Limite > > 20% Limite				

Tabla 3: Tromboelastometría 26-04-2025 08:28 hs.

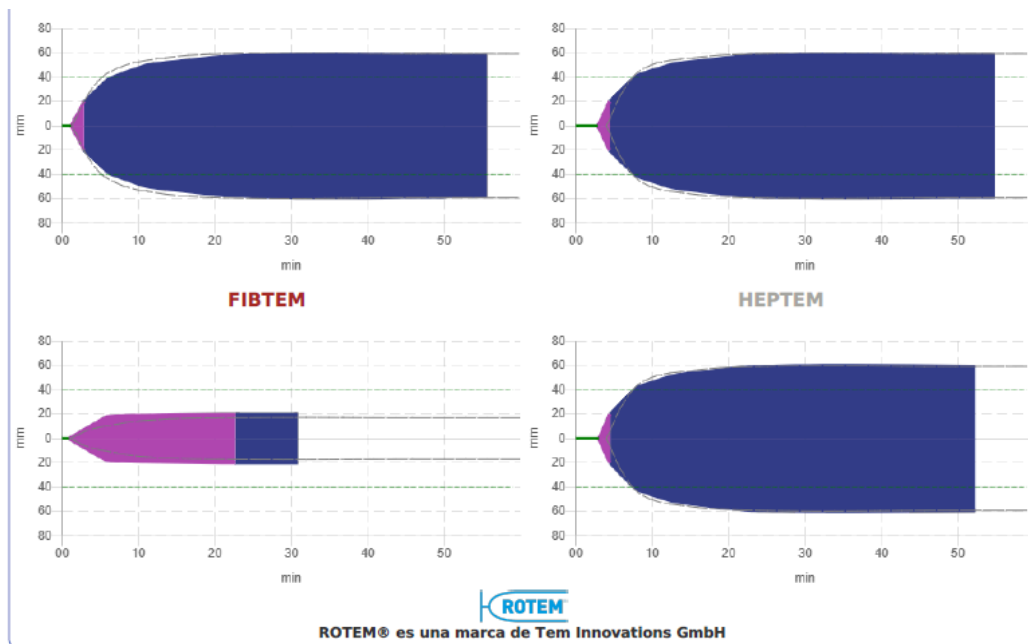


Figura 5: Trazado de temogramas 26-04-2025 08:28 hs.

Se puede evidenciar una mejora hemostática en la paciente.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El enfoque diagnóstico y terapéutico guiado por ROTEM representa un cambio de paradigma respecto a los modelos tradicionales de transfusiones o aporte terapéutico con hemocomponentes a un paciente con hemorragia. A diferencia de las estrategias convencionales que suelen basarse en la administración empírica de hemocomponentes, en forma de paquetes predeterminados -tales como glóbulos rojos, plasma y plaquetas-, el uso de ROTEM permite individualizar el tratamiento hemostático a partir de una evaluación integral y en tiempo real del proceso de coagulación del paciente. No solamente es más rápido, sino que tiene mayor poder diagnóstico sobre la hemostasia del paciente al poder evaluar el estado en que se encuentra de una manera más amplia.

Esto permite optimizar el uso racional de productos sanguíneos, disminuir complicaciones asociadas a la transfusión y mejorar la precisión en la toma de decisiones terapéuticas. No obstante, se debe considerar que los algoritmos estandarizados de ROTEM han sido desarrollados principalmente para población adulta, por lo que en población pediátrica se precisa realizar una interpretación adaptada por parte del equipo médico interviniente, teniendo en cuenta las particularidades fisiológicas de la edad y del contexto clínico.

En el caso presentado, la interpretación dinámica de los resultados permitió identificar en forma oportuna las alteraciones hemostáticas de la paciente. Esto guió la toma de decisiones clínicas inmediatas, como la administración de protamina, ácido tranexámico y transfusiones dirigidas de hemocomponentes. Esta estrategia permitió corregir progresivamente las alteraciones hemostáticas, observándose parámetros dentro de rangos normales en el tercer control realizado al día siguiente de la cirugía.

PERSPECTIVAS

La incorporación de este sistema dentro del laboratorio presenta diversos desafíos, entre ellos, la validación de rangos de referencia específicos por edad, la adaptación de algoritmos de interpretación y la capacitación del equipo médico en su interpretación contextualizada.

A su vez, la integración de ROTEM en protocolos clínicos estandarizados para cirugía cardiovascular pediátrica y terapia con ECMO debería ir acompañada de estudios prospectivos que evalúen su impacto en variables clínicas relevantes, como la reducción de transfusiones, las tasas de sangrado, la duración de la asistencia mecánica y los desenlaces clínicos. Asimismo, sería deseable el desarrollo de algoritmos específicos para la población pediátrica que contemplen las particularidades del desarrollo hemostático en las distintas etapas de la infancia, así como el ajuste de las dosificaciones terapéuticas -como hemoderivados o antifibrinolíticos- en función del peso corporal del paciente. Esto permitiría evitar tanto el subtratamiento como la sobrecorrección, optimizando de esta manera la eficacia terapéutica y reduciendo los riesgos asociados.

Dada la experiencia en el uso de ROTEM en cirugías cardiovasculares, como la presentada en este trabajo, es de suma relevancia el rol del laboratorio en dar respuesta a este tipo de instancias en donde este equipo complementa los estudios prequirúrgicos y de hemostasia intra quirófano. En este contexto, el Bioquímico es un eslabón fundamental en el trabajo en equipo junto con cirujanos, anestesiólogos y personal de recuperación.

BIBLIOGRAFÍA

- Castro, A. (2000). La comunicación interventricular. *Revista Médica Basadrina*.
<https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rmb/article/view/572>
- ELSO – Extracorporeal Life Support Organization. (s. f.). *What's ECMO?*
<https://www.elso.org/extracorporeal-membrane-oxygenation.aspx>
- Moreira, M., Armentano, M., Hernández, S., Favaloro, R., Dip, N., Alday, L., & Torres, P. (2013). Asistencia circulatoria mecánica en pediatría: Experiencia en el Hospital de Pediatría Dr. Juan P. Garrahan. *Archivos de Cardiología de México*, 84(4), 256–261.
<https://doi.org/10.1016/j.acmx.2013.12.009>
- Na, H. S., Lee, J. H., & Lee, S. H. (2019). The role of evidence-based algorithms for rotational thromboelastometry-guided bleeding management. *Korean Journal of Anesthesiology*, 72(3), 195–200. <https://doi.org/10.4097/kja.19169>
- Revista Médica Basadrina. (2015). Incidencia y patologías asociadas del Síndrome de Down en recién nacidos del Hospital Edgardo Rebagliati Martins. *Revista Médica Basadrina*. <https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rmb/article/view/572>



APLICACIÓN DE ROTEM EN CIRUGÍA CARDIOVASCULAR PEDIÁTRICA



Hereñu, Corina¹; De Luca, Julieta²; Bonavita, Daniela¹

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Sanatorio Parque, Rosario.

PRESENTACIÓN

Paciente de 6 meses de edad con Síndrome de Down, que presenta una comunicación interventricular (CIV), la cual desencadenó signos clínicos compatibles con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), incluyendo taquipnea, dificultad para la alimentación y escaso aumento de peso. Debido a lo descrito anteriormente, se decidió mediante junta médica interdisciplinaria realizar una intervención quirúrgica de corrección del canal A-V. Tras la intervención, la paciente persiste con disfunción ventricular izquierda e hipertensión pulmonar severa, refractaria al tratamiento convencional indicado para la patología. Motivo por el cual se resolvió la conexión a oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO veno-arterial) como medida de soporte vital. A partir de este momento, se comenzó la evaluación del estado hemostático de la paciente mediante el uso de ROTEM, lo cual será analizado en este trabajo.

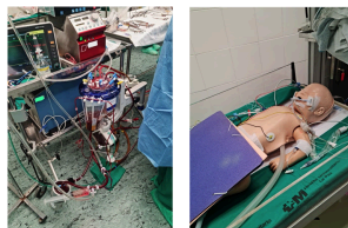


Figura 1. Equipo de ECMO.

EQUIPO ROTEM DELTA

Registra los cambios cinéticos del coágulo en una muestra de sangre entera citrada sin centrifugar. Mide la resistencia mecánica generada por un coágulo en formación en una muestra que oscila levemente, y la traduce en un gráfico temporal llamado temograma, el cual describe la interacción entre diversos componentes de la hemostasia.

PARÁMETROS QUE SE OBTIENEN

- CT: es el tiempo de coagulación. Evalúa la actividad de los factores de coagulación.
- A5: es la amplitud o firmeza del coágulo cinco minutos después del CT, indica el aporte inicial de plaquetas y fibrinógeno.
- MCF: es la firmeza máxima alcanzada por el coágulo.
- ML: es el porcentaje de reducción en la firmeza del coágulo en el momento reportado, evalúa la presencia de hiperfibrinólisis.

REACTIVOS DE TRABAJO

EXTEM: Rápida evaluación de la formación del coágulo, la polimerización de la fibrina y de la fibrinólisis por activación de la vía extrínseca.
 INTEM: Es útil para detectar inhibidores de la vía intrínseca o anticoagulantes como heparina no fraccionada.
 FIBTEM: Posibilita la detección hipofibrinogenemia o disfunción del fibrinógeno.
 APTEM: Permite confirmar hiperfibrinólisis y ayudar a determinar la potencial eficacia del tratamiento antifibrinolítico.
 HEPTTEM: Puede detectar una diferencia entre coagulopatía verdadera y anticoagulación por heparina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

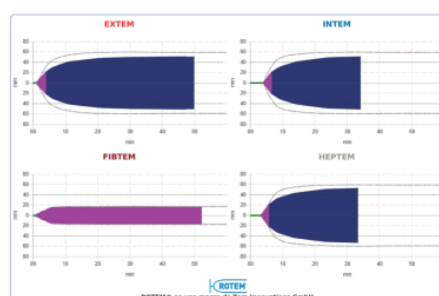


Figura 2. Trazado de temogramas 25-04-2025 22:25 hs.

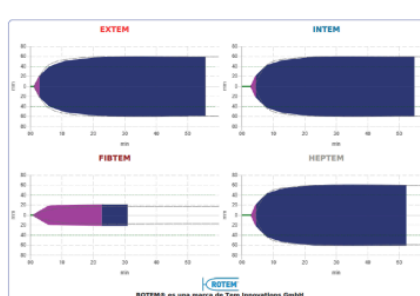


Figura 3. Trazado de temogramas 26-04-2025 08:28 hs.

En el primer control (Figura 2) se observa prolongación del CT, disminución de la amplitud inicial (A5) y una marcada elevación del ML, compatible con hiperfibrinólisis. Además, los valores reducidos de MCF sugieren hipoagregación plaquetaria. En función de estos hallazgos, se administró ácido tranexámico y se transfundieron plaquetas, además de glóbulos rojos según requerimientos clínicos.
 En el siguiente control (Figura 3) se demuestra una mejora global de la hemostasia, con normalización de los tiempos de coagulación, incremento del MCF y ausencia de hiperfibrinólisis.

CONCLUSIONES

A diferencia de las estrategias convencionales que suelen basarse en la administración empírica de hemocomponentes, en forma de paquetes predeterminados -tales como glóbulos rojos, plasma y plaquetas-, el uso de ROTEM permite individualizar el tratamiento hemostático a partir de una evaluación integral y en tiempo real del proceso de coagulación del paciente. No solamente es más rápido, sino que tiene mayor poder diagnóstico sobre la hemostasia del paciente al poder evaluar el estado en que se encuentra de una manera más amplia.
 En el caso presentado, la interpretación dinámica de los resultados permitió identificar en forma oportuna las alteraciones hemostáticas de la paciente. Esto guió la toma de decisiones clínicas inmediatas. Esta estrategia permitió corregir progresivamente las alteraciones hemostáticas, observándose parámetros dentro de rangos normales en el tercer control realizado al día siguiente de la cirugía.



Manejo de pacientes por enfermedades de transmisión sexual en el Hospital “Intendente Gabriel Carrasco” de Rosario.

25/07/2025

Autor: Bruno Frisco.

Tutores: Eleonora Pezzarini, Cintia Ballone, Marisa Garbini.

Institución de rotación: Hospital “Intendente Gabriel Carrasco”.

PRESENTACIÓN.

El objetivo de este trabajo es desarrollar las distintas etapas por las que debe transitar un paciente en el Hospital “Intendente Gabriel Carrasco” cuando el mismo presenta o se hace un diagnóstico de “Infección de Transmisión Sexual” (ITS). El recorrido comienza con la consulta médica y concluye con el suministro de un antibiótico determinado en el área de Farmacia del Hospital.

MANEJO DEL PACIENTE.

Cuando un paciente con posible ITS llega al Hospital Carrasco puede ser atendido por el área de Infectología del hospital o por la *Consejería de VIH/SIDA, ITS y Hepatitis virales* (o servicio de detección). Los infectólogos, con la finalidad de poder diagnosticar al paciente, piden que el mismo se realice una serie de análisis en el hospital para confirmar el diagnóstico de ITS. Además, pueden otorgar a quienes requieran la “*profilaxis pre-exposición*” (*PrEP*), medicamento antirretroviral que se usa antes de tener una relación sexual de riesgo para evitar la infección de VIH. Lo que más frecuentemente se evalúa es: Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), Sífilis, Virus de Hepatitis B (VHB) y Virus de hepatitis C (VHC). También suelen atenderse pacientes con diagnóstico de Gonorrea o infección uretral por *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Chlamydia trachomatis*. Los motivos de consulta son: relación sexual sin protección, embarazo, pareja con ITS/embarazo, presencia de secreciones en los genitales, uretritis, entre otros.

La *Consejería de VIH/SIDA, ITS y Hepatitis virales* actúa de forma independiente al área de Infectología y se encarga de brindar información y asesoramiento, así como también pide pruebas de detección de ITS. Está a cargo de una médica, quien realiza al paciente una encuesta con información acerca de las vías de transmisión a las que estuvo expuesto, así como antecedentes y datos de la pareja en caso de tenerla. Luego de completada la entrevista, el paciente es enviado al laboratorio para hacer los análisis correspondientes.

Respecto al VIH, el Hospital Carrasco recibe pacientes tanto para diagnóstico como para tratamiento. En el laboratorio del hospital se realiza la toma de muestra, siendo las determinaciones derivadas al CEMAR. Para diagnóstico de VIH, se realiza una primera

determinación (ELISA de 4^{ta} generación). Si la primera muestra da resultado positivo, se vuelve a recitar al paciente. En este caso se realiza otra técnica (Quimioluminiscencia) para confirmar el diagnóstico. Además, el laboratorio atiende a pacientes ya diagnosticados de VIH que están en tratamiento con antirretrovirales y que visitan al infectólogo cada 3 a 6 meses dependiendo de si el tratamiento está o no haciendo efecto. Se realiza tanto la Carga Viral Plasmática (CVP) como la determinación de las subpoblaciones linfocitarias de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. Todos estos estudios son derivados al CEMAR.

Los pacientes con diagnóstico de Sífilis suelen consultar por presencia de lesiones en la piel (pápulas cutáneas, úlceras, verrugas), secreciones genitales y úlceras orales. Los pacientes ya diagnosticados, concurren al laboratorio para evaluar la eficacia del tratamiento. Las muestras obtenidas son procesadas dentro del laboratorio del hospital donde se realiza tanto la prueba no treponémica (VDRL) como la prueba treponémica (ensayo inmunocromatográfico *Bioline™ HIV/Syphilis Duo* de Abbot). Una vez concluidos los análisis, el paciente se trata con penicilina intramuscular, dependiendo del estadio. En caso de que el paciente tenga Sífilis terciaria la penicilina se da de forma intravenosa.

Los pacientes que consultan por Gonorrea suelen ser hombres que presentan secreción uretral purulenta, disuria y aumento de la frecuencia miccional. Se realiza el diagnóstico presuntivo de uretritis. Luego se los envía al laboratorio con pedido de hisopado uretral. Este último es realizado por el propio personal del laboratorio, el cual además de la toma de muestra realiza una serie de preguntas a los pacientes con el objetivo de obtener información útil para el diagnóstico. Al finalizar la toma de muestra los pacientes deben dirigirse hacia la farmacia del hospital donde se les da ceftriaxona (1 dosis intramuscular).

El hisopado es analizado en el área de Bacteriología. Allí se realiza el cultivo de *N. gonorrhoeae* en Agar Chocolate (anaerobiosis). Se incuba a 37°C en estufa. También se observan en el microscopio un fresco y una tinción de Gram (con la cual se puede diagnosticar Gonorrea en caso de ver diplococos Gram negativos intra y extracelulares). También se realiza con el fin de identificar al género y especie que produce la infección, una PCR y un MALDI-TOF, ambas determinaciones derivadas al CEMAR.

Los pacientes con diagnóstico de hepatitis, luego de ser atendidos por los infectólogos o por la *Consejería de VIH/SIDA, ITS y Hepatitis virales*, concurren al laboratorio donde se

realizan distintos análisis. Para evaluar hepatitis B se realiza la determinación del HBsAg. Cuando el HBsAg da resultado positivo, el paciente vuelve a ser recitado para que se le determinen el resto de los marcadores serológicos. Por otro lado, para evaluar hepatitis C se realiza la determinación de anticuerpos anti-VHC. En el caso que de positivo el anticuerpo a-HCV, el paciente también vuelve a ser recitado para confirmar el resultado positivo obtenido.

MARCO TEÓRICO

Las ITS son patologías que se transmiten luego de tener una relación sexual sin protección con una persona infectada. Dentro de las mismas se encuentran: Sífilis, VIH, Hepatitis B, Hepatitis C, Gonorrea, entre otras.

SÍFILIS: Es una enfermedad causada por la bacteria *Treponema pallidum* adquirida por contacto sexual, por vía transplacentaria, por transfusión de sangre contaminada o por inoculación accidental. La clínica de la misma se divide en 3 etapas: Sífilis primaria, Sífilis secundaria y Sífilis terciaria.

-*Sífilis primaria:* Se caracteriza por la presencia de una úlcera indurada indolora llamada “chancro”. Este tarda en aparecer entre 10 y 90 días y permanece durante un período de tiempo de 3 a 5 semanas. Se ubica en el surco balanoprepucial, en el glande y en el pene. También pueden hallarse en la mucosa oral o anal.

-*Sífilis secundaria:* Es una erupción macular de color rojo, indolora y de 1-2 centímetros de tamaño. Se ubica en las palmas de las manos y en las plantas de los pies, pudiendo ser localizada o generalizada.

-*Sífilis terciaria:* Aparece años después de producida la infección, afectando a personas que no realizaron el tratamiento o lo hicieron de forma inadecuada. Tiene efecto a nivel cardiovascular (afectando principalmente a vasos de gran calibre). También está asociada a sífilis gomosa y a lesiones granulomatosas localmente destructivas. Por último, la sífilis terciaria también se asocia a neurosífilis. Esta puede ser asintomática, pero también puede ocasionar un accidente cerebrovascular (A.C.V.) o sífilis meningovascular.

Además de los estadios mencionados previamente, debe tenerse en cuenta la existencia de Sífilis congénita, la cual puede provocar un aborto. Los neonatos con sífilis pueden nacer

con ceguera, sordera, problemas neurológicos, anemia grave, hepato y esplenomegalia, siendo peor los casos que se producen en el primer trimestre de embarazo. Para evitar la Sífilis congénita, se hace la prueba diagnóstica de sífilis en la mujer embarazada en cada uno de los trimestres del embarazo. Si da resultado positivo, se debe comenzar el tratamiento lo antes posible con penicilina.

Laboratorio. Existen 2 tipos de exámenes para evaluar la Sífilis: las pruebas no treponémicas y las pruebas treponémicas. Las pruebas no treponémicas son útiles en la detección de Sífilis activa (screening) y para el seguimiento serológico del tratamiento. Detectan anticuerpos inespecíficos que no actúan contra *T. pallidum*, sino que se unen a lípidos que se liberan de los tejidos infectados. Ejemplo de esta es la VDRL. Se positivizan a las 2 semanas de la aparición del chancro y se negativizan dentro de los 6 meses si el tratamiento es efectivo, pudiendo tener títulos bajos toda la vida. Son métodos sensibles pero no específicos, de allí a que se requiera confirmación. Las pruebas treponémicas detectan anticuerpos específicos contra *T. pallidum* y sirven para confirmar el diagnóstico de sífilis. Estos anticuerpos una vez que se positivizan se mantienen positivos por muchos años por lo que no sirven para diferenciar una enfermedad antigua de una actual. Dentro de las técnicas treponémicas están: FTA-Abs (usa anticuerpos fluorescentes), MHA-TP (hemoaglutinación entre glóbulos rojos sensibilizados con el antígeno de *T. pallidum* y los anticuerpos presentes en el suero del paciente), enzimoimmunoanálisis (ELISA) y test rápido inmunocromatográfico (inmunoanálisis cualitativo que detecta anticuerpos de *T. pallidum* en suero, plasma y sangre completa).

GONORREA: Es una ITS producida por la bacteria diplococo Gram negativa *Neisseria gonorrhoeae*, la cual infecta a la uretra del hombre y al cuello uterino de la mujer. Se transmite por contacto con mucosas de personas infectadas, principalmente por contacto sexual y en el parto si la madre está infectada. La enfermedad se caracteriza por secreción purulenta o mucopurulenta. En hombres hay descarga uretral (se producen exudados uretrales), disuria y poliuria, mientras que las mujeres son en su mayoría asintomáticas. Si no se hace el tratamiento se pueden afectar las vías genitales y son comunes los síntomas urinarios (como uretritis y cervicitis). Si la infección se disemina se puede producir artritis (aunque no es muy común).

Laboratorio. **Cultivo:** *N. gonorrhoeae* debe idealmente cultivarse en el medio selectivo Thayer Martin (específico para *N.gonorrhoeae*). Sin embargo, se puede emplear el Agar Chocolate como medio de cultivo. **Tinción de Gram:** Permite determinar la presencia de diplococos Gram negativos intra y extracelulares correspondientes a *Neisseria gonorrhoeae*, pudiendo así llegar al diagnóstico. **Pruebas moleculares:** Son técnicas muy sensibles ya que permiten la detección del ADN de *N. gonorrhoeae*. Es muy importante el estricto seguimiento de las instrucciones de toma de muestra y transporte ya que el no cumplimiento de estas puede afectar gravemente el desempeño de las pruebas.

VIH/SIDA: El VIH es un retrovirus que produce inmunodeficiencia debido a que infecta a las células responsables del desarrollo de una respuesta inmune efectiva tales como linfocitos T CD4+, Macrófagos y células dendríticas. La infección por parte de este virus es persistente debido a que el VIH se integra en el genoma de las células infectadas.

Laboratorio. Para la determinación del VIH se pueden implementar métodos directos (que detectan al virus o a proteínas/ácidos nucleicos que estos presentan) o métodos indirectos (detectan anticuerpos específicos dirigidos contra el VIH). A diferencia de lo que ocurre en otras patologías, en la infección VIH/SIDA la presencia de anticuerpos indica que la persona es portadora de la patología (puede infectar a otra persona), independientemente de si presenta la clínica o no. En la actualidad, se implementan los ELISA de 4ta generación para la determinación del VIH. Estos se caracterizan porque detectan tanto antígenos como anticuerpos y presentan el menor período ventana¹(2 semanas desde el comienzo de la infección). Son métodos muy sensibles y detectan niveles tan pequeños de anticuerpos que podrían producir falsos positivos. Por eso, una vez obtenido el resultado positivo, debe utilizarse otro ensayo donde se detecte idealmente otro anticuerpo para confirmar el resultado positivo previamente obtenido.

-Evaluación del éxito del tratamiento: Para chequear que el tratamiento con antirretrovirales esté funcionando se puede recurrir a tres criterios de evaluación diferentes: virológicos (CVP), inmunológico (subpoblación de linfocitos T CD4+ y CD8+) y clínico. Para que el resultado de la CVP indique que el tratamiento se realizó exitosamente, el mismo debe ser menor a 50 copias/mL.

¹ El período ventana es el tiempo que transcurre entre la infección y la seropositividad.

HEPATITIS B: Esta enfermedad afecta a 350 millones de personas, las cuales pueden presentar problemas hepáticos importantes tales como cirrosis y fibrosis con el paso de los años. Además, es importante destacar que la hepatitis B es la principal causa de cáncer hepático en el mundo. Es una ITS que se produce a través de relaciones sexuales así como por contacto con la sangre de personas infectadas. Hoy en día esta enfermedad se puede prevenir a través de una vacuna.

Laboratorio. El marcador más utilizado para determinar VHB es: **HBsAg** (antígeno de superficie). Cuando una persona está infectada con el VHB, este antígeno aparece en el torrente sanguíneo. Si los valores se mantienen elevados pasados los 2 meses se determina mal pronóstico y evolución a la cronicidad. La positividad de este marcador por más de 6 meses frecuentemente se asocia a una enfermedad hepática crónica.

HEPATITIS C: La hepatitis C se caracteriza por ser la principal causa de hepatitis crónica, mientras que la hepatitis aguda es minoritaria. De las hepatitis crónicas, la quinta parte concluye en una cirrosis y el 4% concluye con un carcinoma hepatocelular. Se produce por vía parenteral o percutánea (usuarios de drogas intravenosas, transfusiones y pinchazos accidentales), por vía sexual y por vía materno-fetal.

Laboratorio: Anticuerpos a-HCV (Anticuerpos totales contra el VHC): Los anticuerpos a-HCV determinan el contacto actual o pasado con el VHC, aunque no es suficiente para determinar una infección crónica. La determinación de estos anticuerpos se realiza mediante antígenos sintéticos/recombinantes, los cuales detectan a los anticuerpos en un período de 2 meses (período ventana). Considerando este último, un resultado negativo no implica que el paciente no esté infectado. También debe tenerse en consideración que dichos resultados negativos pueden obtenerse en pacientes infectados que están inmunosuprimidos o con hemodiálisis. Ensayos suplementarios para a-HCV: Son pruebas de Inmunoblotting (RIBA o LIA) cuya función es la de confirmar resultados positivos obtenidos con ELISA. Si estos ensayos dan resultado negativo y el ELISA fue positivo, entonces puede haberse producido un falso positivo en el ELISA. Si el resultado obtenido en los ensayos suplementarios es positivo y el ARN-VHC es indetectable en 2 determinaciones continuas espaciadas en un lapso de 6 meses, la enfermedad se curó.

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES.

Para analizar el manejo de los pacientes se procedió a evaluar a las personas que dieron positiva la VDRL y la prueba treponémica, así como aquellos que se realizaron la CVP para VIH y el ELISA para su detección. Respecto a las Hepatitis B y C, se analizó únicamente aquellos a quienes dio positiva la determinación del HBsAg, y a quienes se les detectaron anticuerpos anti-VHC, respectivamente. Por último, también se evaluaron los resultados obtenidos de los exudados uretrales. Teniendo en consideración los antecedentes de cada paciente dentro del Hospital Carrasco y las determinaciones que se realizaron, se analizó la cantidad de casos nuevos así como la cantidad de personas que están bajo tratamiento de VIH y de Sífilis. En el caso de personas con Hepatitis B y C sólo se evaluaron los casos nuevos. Todas las determinaciones fueron realizadas entre los meses de Marzo y Julio del presente año. En total se estudiaron 267 pacientes.

ENFERMEDAD	PERSONAS ESTUDIADAS	HOMBRES	MUJERES	CASOS NUEVOS	PERSONAS EN TRATAMIENTO
SÍFILIS	96	44	52	61	34
VIH	137	94	43	2	128
HEPATITIS B	9	1	8	9	-
HEPATITIS C	1	1	0	1	-
GONORREA	24	24	0	13	-

Tabla 1. En esta Tabla se diferencian las poblaciones correspondientes a cada una de las patologías estudiadas. Se dividió a cada subpoblación en función de su género y de si los casos eran nuevos o de personas ya en tratamiento.

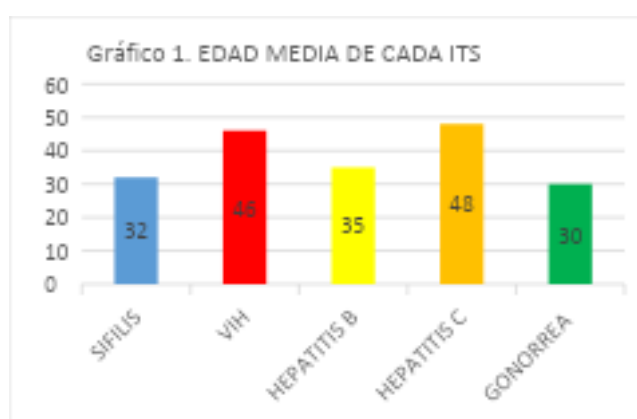


Gráfico 1: Edad Media de cada ITS.

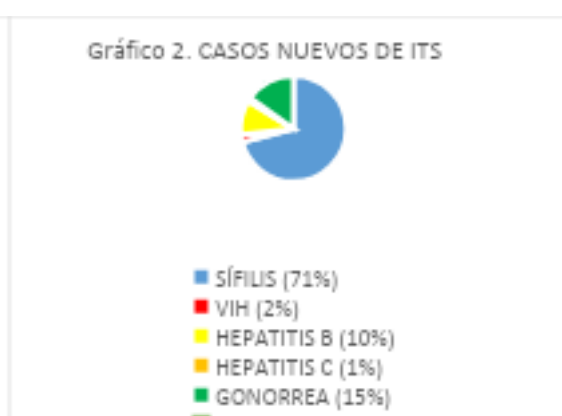


Gráfico 2: Casos nuevos de ITS.

Además, se analizó específicamente cada una de las enfermedades haciendo hincapié en los aspectos más importantes. La única enfermedad que no se analizó fue Hepatitis C ya que solo 1 persona fue diagnosticada.

El número de pacientes con VDRL y prueba treponémica positivas fue 96. Dichos pacientes abarcan un rango etáreo entre los 15 y 69 años. La distribución entre los sexos es homogénea y, considerando la edad promedio obtenida, puede concluirse que la sífilis se presenta en adultos jóvenes. Además, es importante destacar que aproximadamente 1 de cada 14 personas con sífilis presenta coinfección con VIH y 2 de cada 100 presenta coinfección con Hepatitis B. Por otro lado, de las 52 mujeres estudiadas, 15 están embarazadas, lo que representa el 29%. Como conclusión, puede observarse la gran importancia que tiene el análisis de VDRL que se realiza durante el embarazo. Todas las mujeres embarazadas mencionadas deberán iniciar el tratamiento con penicilina a fin de evitar la Sífilis Congénita. Esto es muy importante, no solo por el riesgo de que se produzca un aborto, sino por todos los problemas que provocaría en el neonato.

De los 137 pacientes que se realizaron análisis de VIH, 128 son pacientes ya diagnosticados que concurren periódicamente al hospital para evaluar la CVP. De este último grupo, la gran mayoría de los pacientes (68%) tienen una CVP menor a las 50 copias/mL, lo que implica que gran parte de los pacientes VIH que se atienden en el Hospital Carrasco cumple con el tratamiento de manera adecuada. Sin embargo, el 32% no lo hace. De las 41 personas con una CVP > 50 copias/mL, 4 son mujeres embarazadas. En estos casos habría que tener especial cuidado ya que en caso de tener un embarazo, transmitirían el VIH por vía vertical o en la lactancia. Además, de los 9 pacientes que dieron ELISA para VIH positivo, tan solo 2 dieron resultado positivo en la 2° muestra. Por otro lado, hay que destacar el hecho de que la tercera parte de los pacientes a los que el ELISA les dio positivo, no se realizó una nueva determinación para confirmar el diagnóstico. De aquí a que sea fundamental el seguimiento de los pacientes por parte del personal médico. Si bien tanto la Sífilis como el VIH se transmiten por los mismos medios, la incidencia de VIH observada es menor que la de Sífilis (ver gráfico 2).

De las 9 personas que dieron resultado positivo para HBsAg, 8 eran mujeres y tan solo 1 era hombre. Además, es muy importante destacar que de las 8 mujeres mencionadas la mitad estaban embarazadas. En este caso debe tenerse en cuenta que la vacuna y la gammaglobulina a-HBV tiene una eficacia mayor al 90% para prevenir la infección neonatal. Además, la profilaxis con hipergammaglobulina a-VHB en las primeras 24 horas postparto protegen casi en un 100% al bebé. Por otro lado, el 22% de las personas con Hepatitis B

analizadas eran VIH (+), lo que implica la gran influencia de esta última en el desarrollo de Hepatitis B.

GONORREA					
POSITIVOS	EDAD PROMEDIO	EDAD MÍNIMA	EDAD MÁXIMA	HOMBRES	MUJERES
13	30	16	52	24	0

Tabla 2. En esta tabla se muestran los datos estadísticos correspondientes a Gonorrea.

De los 24 pacientes que se realizaron el exudado uretral, 13 (54%) dieron resultado positivo para Gonorrea (se observaron diplococos Gram negativos en la tinción de Gram). En base a la Tabla 2 puede concluirse que la Gonorrea afecta principalmente a hombres jóvenes. De hecho, es la ITS con la edad promedio más baja. Es también importante destacar que el hecho de que todos los pacientes sean hombres no implica que la enfermedad no se presente en mujeres, sino que en estas el cuadro transcurre de forma asintomática.

PERSPECTIVAS.

En base a las discusiones anteriormente presentadas puede afirmarse la importancia del uso de preservativos durante el acto sexual. Para lograr esto es importante la Promoción de la Salud, la cual puede alcanzarse a través de la Educación Sexual Integral. Mediante esta se podrá inculcar a los más jóvenes conductas responsables que eviten la transmisión de estas enfermedades.

Por otro lado, también es importante lograr abastecer a los hospitales públicos de preservativos. Según testimonios, durante los últimos años, la cantidad de preservativos disponibles en los hospitales públicos disminuyó, produciendo esto un aumento de los casos de ITS, principalmente Sífilis.

En tercer lugar, vale destacar que, según datos obtenidos del área de Infectología del Hospital, gran parte de los pacientes ha tenido múltiples parejas. Esto nos permite deducir el hecho de que hoy en día al ser las relaciones de corta duración, hay mucha promiscuidad, lo que contribuye al aumento de casos de ITS.

Como comentario final, quiero destacar la importancia de tener hábitos saludables. Tanto el uso de preservativos, como la buena higiene y el uso de guantes por parte del personal

de salud para evitar el contacto con sangre contaminada son vitales para reducir el riesgo de infección.

BIBLIOGRAFÍA.

- Gardiol Daniela, Pérez Germán R. “Diagnóstico en Virología”. ISBN: 978-950-673-924-9. Páginas (120-122,140-142,151-152), (207-218). 2011.
- Sciarratta Patricia, Operto María Alejandra. “Respuesta Inmune a Bacterias y Parásitos”. Página (2-20). 2023.
- Díaz Jorge. “Vigilancia epidemiológica de Sífilis y Gonorrea”. ISSN 0716-1018 (Revista chilena de infectología vol. 30 no. 3). 2013.
- Apollo Hospitals.
<https://www.apollohospitals.com/es/diagnostics-investigations/hbsag-test>
- Entrevista realizada en el área de Infectología del “Hospital Intendente Gabriel Carrasco”.

Frisco Bruno¹, Ballone Cintia⁴, Garbini Marisa⁴, Pezzarini Eleonora^{2,3}.

¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario (FBIQyF).

²Área de Bioquímica Clínica de FBIQyF.

³Laboratorio Mixto de Enfermedad Celica (LMEC).

⁴Hospital "Intendente Gabriel Carrasco", Municipalidad de Rosario.

1 Introducción.

Cuando un paciente con posible "Infección de Transmisión Sexual" (ITS) llega al Hospital Carrasco, los infectólogos le piden que se realice allí una serie de análisis para confirmar el diagnóstico de ITS. La *consejería de VIH/SIDA, ITS y Hepatitis virales* actúa de manera independiente al área de Infectología y se encarga de brindar información y asesoramiento, además de pedir pruebas de detección de ITS.

Lo que más frecuentemente se evalúa es: Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), Sífilis, Virus de Hepatitis B (VHB) y Virus de Hepatitis C (VHC). También suelen atenderse pacientes con diagnóstico de Gonorrea o infección uretral por *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* y *Chlamydia trachomatis*.

Una vez finalizado el paso de los pacientes por el laboratorio, estos son dirigidos hacia la farmacia del hospital, donde el paciente recibe un antibiótico específico que siempre debe suministrarse una vez concluida la toma de muestra.

2 Materiales y métodos.

Se estudiaron 267 pacientes que concurren al laboratorio del Hospital Carrasco entre los meses de Marzo y Julio del presente año. Según solicitud médica se realizaron tomas de muestra de sangre y/o exudado uretral. Las determinaciones realizadas fueron: VDRL, tinción de Gram Nicolle y cultivo en Agar Sangre y Agar Chocolate en anaerobiosis a 37°C para hisopados uretrales y test rápidos para búsqueda de anticuerpos contra *T. pallidum* y VIH. El resto de las determinaciones correspondientes a Hepatitis B y C, VIH y gonorrea se remitían al CEMAR.



Gráfico 1: Materiales utilizados para realizar los hisopados uretrales. Estos incluyen 3 hisopos estériles, 1 tubo con solución fisiológica, 1 tubo con medio Stuart, 1 eppendorf con solución para estudios de Biología Molecular y 2 portaobjetos para realizar la tinción de Gram Nicolle.

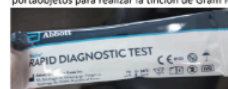


Gráfico 2: El test "Bioline HIV/Syphilis Duo" de Abbott se usa como prueba cualitativa que detecta la presencia de anticuerpos IgG/IgM dirigidos contra VIH-1, VIH-2 y contra *T. pallidum*. De allí a que se la utilice en el Hospital Carrasco como prueba treponémica para el diagnóstico de Sífilis.

3 Resultados.

ENFERMEDAD	PERSONAS ESTUDIADAS	HOMBRES	MUJERES	CASOS NUEVOS	PERSONAS EN TRATAMIENTO
SÍFILIS	96	44	52	61	34
VIH	137	94	43	2	126
HEPATITIS B	9	1	8	9	-
HEPATITIS C	1	1	0	1	-
GONORREA	24	24	0	13	-

Tabla N°1: Número de personas estudiadas, analizadas según su sexo. Incidencia de cada una de las enfermedades así como cantidad de personas que se encuentran bajo tratamiento.

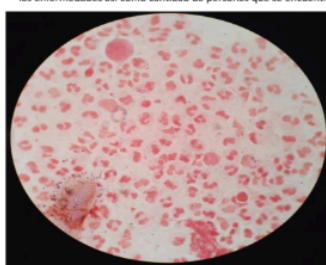


Gráfico 3: Microscopía de *Neisseria gonorrhoeae* (diplococos gram negativos intracelulares y extracelulares) de un hisopado uretral de un paciente masculino con gonorrea.



Gráfico 4: Mediana de la edad de cada ITS.



Gráfico 5: Gráfico de dispersión realizado en base a las edades de las personas con Sífilis.

Gráfico 6: CASOS NUEVOS DE ITS.

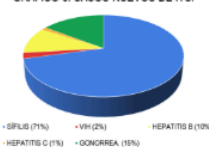


Gráfico 6: Porcentaje correspondiente a cada una de las ITS diagnosticadas en pacientes del Hospital Carrasco entre Marzo y Julio de 2025.

4 Conclusión.

- La sífilis es la ITS de mayor incidencia. Afecta principalmente a adultos jóvenes, siendo los hombres y las mujeres igualmente afectados. De todas las mujeres diagnosticadas de Sífilis, aproximadamente el 30% estaban embarazadas. Esto verifica la importancia de realizar la VDRL durante el embarazo para prevenir la sífilis congénita en el neonato. Además, se observó la existencia de coinfección de Sífilis con VIH y con VHB.
- La gonorrea se destacó por ser la segunda ITS de mayor incidencia y porque todos los pacientes en estudio fueron hombres. Esto no implica la inexistencia de mujeres infectadas, sino que la gonorrea se presenta de forma asintomática en la mujer.
- La gran mayoría de los pacientes estudiados por VIH están ya diagnosticados y bajo tratamiento, teniendo una CVP indetectable, lo que implica que el tratamiento resulta efectivo.
- Respecto a la Hepatitis B, se ve un predominio del género femenino. De las 8 mujeres diagnosticadas, 4 estaban embarazadas. Además, el 22% de los diagnosticados presenta coinfección con VIH.

5 Perspectivas.

Para prevenir el desarrollo de ITS es fundamental el uso de preservativos y el desarrollo de distintas actividades de Promoción de la Salud. Esto puede alcanzarse a través de la Educación Sexual Integral (ESI). Teniendo en cuenta las edades obtenidas como promedio, se concluye que dichas actividades deben realizarse también en el ámbito universitario y en adultos.

Por otro lado, es importante destacar la falta de preservativos gratuitos disponibles en los hospitales públicos. Esto contribuyó al aumento de ITS que viene produciéndose en los últimos años. A esto se le suma el hecho de que muchos pacientes con ITS suelen tener múltiples parejas de corta duración.

Finalmente, quiero destacar la importancia de tener hábitos saludables. Es muy importante, no solamente usar preservativos, sino también mantenerse siempre bien higienizado y hacer uso de guantes en el caso del personal de salud para así evitar posibles infecciones.





Universidad
Nacional
de Rosario



TRABAJO FINAL 2024

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

Pseudotrombocitopenia inducida por Ácido
Etilendiaminotetraacetato (Edta)

Alumna

- Valentina Gobo.

Tutoras

- Dra. Elisa Bolatti

- Dra. Ana Laura Cavatorta

Institución de rotación

- Hospital Privado SADIV (Sociedad Amigos del Disminuido Visual), San Pedro, Provincia de Buenos Aires.

PRESENTACIÓN.

Durante mi rotación por el Servicio de Laboratorio del Hospital Privado SADIV, se presentaron casos clínicos que permitieron reflexionar sobre la importancia del análisis crítico de los resultados y su correlación con la clínica del paciente.

En ese contexto, propusimos el desarrollo de este trabajo, cuyo objetivo fue analizar un caso de pseudotrombocitopenia inducida por EDTA, abordando su fisiopatología, implicancias diagnósticas y terapéuticas, y resaltando la importancia de una correcta interpretación de los resultados para evitar intervenciones innecesarias.

CASO CLÍNICO.

Paciente masculino de 38 años ingresa por la guardia central el día 11/03/2025 por cuadro de diarrea, vómitos y fiebre de varios días de evolución, iniciado el 05/03/2025. Acompañado de hiporexia, debilidad generalizada, dolor abdominal y leve tolerancia a líquidos. Refiere además pérdida de peso reciente.

Entre los antecedentes personales se destacan hipertensión arterial y colecistectomía. Niega alergias, tabaquismo, etilismo y consumo de sustancias.

Al examen físico se encuentra lúcido, orientado, con buen estado general. Se presenta afebril, hemodinámicamente estable y con estado nutricional aceptable. Se observan mucosas pálidas y secas, piel fría y sudorosa, escleras normocoloreadas y conjuntivas rosadas, con signos clínicos de deshidratación. A nivel abdominal, se palpa blando, depresible e indoloro, con ruidos hidroaéreos presentes. Puño percusión bilateral negativa.

Se plantea como diagnóstico presuntivo una gastroenteritis aguda con deshidratación. Se solicita ecografía abdominal y laboratorio con hemograma completo, glucemia, urea, creatinina, hepatograma e ionograma (Tabla 1).

GLÓBULOS BLANCOS	4,41	mil/mm ³
GLÓBULOS ROJOS	4,48	millones/mm ³
HEMATOCRITO	39,5	%
HEMOGLOBINA	13,4	g/dl
RECuento de plaquetas	149	mil/mm³

MPV	12,7	fL
V.C.M.	88	fl
H.C.M.	30	pg
C.H.C.M.	34	%
RDW	12,9	%
NEUTROFILOS SEGMENTADOS	67	%
EOSINÓFILOS	0	%
BASÓFILOS	0	%
LINFOCITOS	18	%
MONOCITOS	15	%
GLUCEMIA	103	mg %
UREA	37	mg %
CREATININEMIA	1,68	mg %
GOT	64	UI/L
GPT	54	UI/L
FOSFATASA ALCALINA	148	UI/L
BILIRRUBINA DIRECTA	0,09	mg %
BILIRRUBINA INDIRECTA	0,47	mg %
BILIRRUBINA TOTAL	0,56	mg %
SODIO	130	mEq/L
POTASIO	3,64	mEq/L
COLORO	93	mEq/L

Tabla 1. Resultados del laboratorio realizado al paciente el día 11/03/2025.

La ecografía no presentó particularidades.

El paciente evolucionó con mejoría clínica obteniendo el alta hospitalaria con pautas de alarma, hidratación, dieta constipante y jarabe de crema de bismuto por 3 días. Asimismo, se le indicó control médico a las 48 horas.

El paciente se presenta nuevamente por guardia el día 13/03/2025 para control. Refiere persistencia de diarrea, aunque con menor frecuencia y mejor consistencia. Niega náuseas, vómitos, fiebre o intolerancia oral.

Al examen físico se encuentra lúcido, orientado y en buen estado general. Se presenta afebril, hemodinámicamente estable y con estado nutricional aceptable. Se observan mucosas pálidas y secas, piel fría y sudorosa, escleras blancas y conjuntivas rosadas, con signos clínicos persistentes de deshidratación. En la evaluación abdominal, se encuentra blando, depresible e indoloro, con ruidos hidroaéreos presentes. Puño percusión bilateral negativa.

Se solicitan nuevos estudios de laboratorio para seguimiento, incluyendo hemograma completo, glucemia, urea, creatinina, hepatograma e ionograma (Tabla 2).

GLÓBULOS BLANCOS	4,08	mil/mm ³
GLÓBULOS ROJOS	4,41	millones/mm ³
HEMATOCRITO	38,9	%
HEMOGLOBINA	12,7	g/dl
RECuento DE PLAQUETAS	38	mil/mm³
MPV	11,1	fL
V.C.M.	88	fl
H.C.M.	29	pg
C.H.C.M.	33	%
RDW	12,9	%
NEUTROFILOS SEGMENTADOS	48	%
EOSINÓFILOS	1	%
BASÓFILOS	0	%
LINFOCITOS	36	%
MONOCITOS	15	%
GLUCEMIA	96	mg %
UREA	32	mg %

CREATININEMIA	1,09 mg %
GOT	67 UI/L
GPT	53 UI/L
FOSFATASA ALCALINA	121 UI/L
BILIRRUBINA DIRECTA	0,15 mg %
BILIRRUBINA INDIRECTA	0,32 mg %
BILIRRUBINA TOTAL	0,47 mg %
SODIO	135 mEq/L
POTASIO	3,22 mEq/L
COLORO	96 mEq/L

Tabla 2. Resultados del laboratorio realizado al paciente el día 13/03/2025.

Se observa una discordancia significativa en el recuento plaquetario en comparación con el obtenido el 11/03/2025, lo que activa las alertas en el equipo del laboratorio. Inicialmente, se repite la medición, obteniendo un valor de 21.000/mm³ y se procede a realizar un frotis de sangre periférica en el que se observan agregados plaquetarios. Ante estos hallazgos, se solicita una nueva extracción, esta vez incluyendo un tubo con citrato de sodio además del habitual con EDTA.

La muestra con EDTA, procesada inmediatamente, arrojó un valor de 136.000/mm³, pero descendió a 50.000/mm³ a los 30 minutos. La muestra con citrato, por su parte, mantuvo un recuento estable de 136.000/mm³, coincidente con el valor obtenido al analizar la muestra con EDTA de forma inmediata luego de la extracción sanguínea.

El recuento de plaquetas de 136.000/mm³ fue el informado.

El paciente recibió el alta hospitalaria con pautas de alarma y posterior seguimiento ambulatorio con el Servicio de Gastroenterología.

MARCO TEÓRICO.

La trombocitopenia es un hallazgo hematológico definido por un recuento de plaquetas inferior a 150.000/mm³. Esta condición puede ser el reflejo de diversas patologías, que incluyen trastornos inmunológicos, infecciosos, oncológicos o efectos secundarios de fármacos. Sin embargo, no todos los recuentos bajos de plaquetas corresponden a una

trombocitopenia verdadera. En ocasiones, se observan recuentos bajos debido a fenómenos *in vitro*, llamado pseudotrombocitopenia.

La fisiopatología de la pseudotrombocitopenia es variada y puede estar relacionada con:

1. La técnica de recolección y procesamiento de la sangre: toma inadecuada de la muestra con desarrollo de micro coágulos en la jeringa y el tubo colector, o dilución de la muestra cuando se obtiene a través de catéteres centrales, agitación inadecuada del tubo colector.
2. Síndrome de plaquetas gigantes .
3. Inducida por EDTA (agregación de plaquetas *in vitro* ante EDTA).
4. Inducida por citrato, oxalato, heparina, aunque en menor proporción existen reportes de casos.
5. Asociada con enfermedades autoinmunitarias, se ha descrito una correlación de 83% entre la detección de anticuerpos plaquetarios y anticardiolipina.
6. Asociada con medicamentos, existen múltiples reportes de pseudotrombocitopenia concomitante con medicamentos, como el abciximab, ácido valproico, mexiletina y olanzapina.

Dentro de las pseudotrombocitopenias, la dependiente de EDTA es la etiología más frecuente. Se refiere al fenómeno en el cual las plaquetas se agregan en sangre extraída y anticoagulada, lo que impide que el contador hematológico reconozca las plaquetas, resultando en un recuento significativamente menor que el valor real (Tabla 3).

Característica	Pseudotrombocitopenia	Trombocitopenia Verdadera
Origen	In vitro	In vivo
Síntomas	Ausentes	Hemorragia, púrpura
Frotis	Aglutinación plaquetaria	Disminución real de plaquetas
Cambia con citrato/heparina	Sí	No
Requiere tratamiento	No	Sí

Tabla 1. Comparación de características clave entre pseudotrombocitopenia y trombocitopenia verdadera, se evidencian diferencias en el origen, hallazgos clínicos, frotis y tratamiento.

El EDTA actúa quelando los iones de calcio (Ca^{2+}), los cuales son esenciales para mantener la integridad estructural de ciertas glicoproteínas de la membrana plaquetaria, particularmente el complejo GPIIb/IIIa (heterodímero dependiente de Ca^{2+}).

En ausencia de Ca^{2+} , se induce un cambio conformacional en el complejo, que expone epítomos crípticos que normalmente se encuentran ocultos en la membrana plaquetaria. Estos epítomos, una vez expuestos, pueden ser reconocidos por autoanticuerpos presentes en la circulación del paciente. Los anticuerpos implicados suelen ser de tipo IgG, IgM o IgA, y en algunos casos se han identificado combinaciones de diferentes isotipos.

La unión de estos anticuerpos a los epítomos expuestos desencadena una reacción antígeno-anticuerpo que lleva a la aglutinación de plaquetas, formando agregados plaquetarios. Estos agregados son mal interpretados por los analizadores hematológicos automatizados, los cuales no son contabilizados como plaquetas individuales, dando lugar a una subestimación del número total de plaquetas (con recuentos bajos falsos). Además, este fenómeno se ve favorecido por temperaturas bajas durante el procesamiento de la muestra, lo que acentúa la desestabilización de la glicoproteína y favorece la agregación.

Se debe sospechar la presencia de pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA en individuos asintomáticos con trombocitopenia aislada, especialmente si no hay evidencia clínica evidente de sangrado u otros trastornos hematológicos.

La incidencia de esta condición oscila entre 0,09 y 0,21 %, siendo mayor en pacientes hospitalizados que en individuos sanos (entre el 1,5 y el 1,9 %). Estudios previos han demostrado que las enfermedades autoinmunes, las infecciones, el embarazo y la heparina de bajo peso molecular son factores de riesgo significativos para la pseudotrombocitopenia dependiente de EDTA.

Dado que el tratamiento y la manipulación de la muestra (incluyendo la extracción, la temperatura, el tiempo de procesamiento) tienen un rol clave en la fisiopatología del fenómeno, y que el frotis sanguíneo es fundamental para diferenciar entre la trombocitopenia verdadera y la pseudotrombocitopenia, se ha propuesto un algoritmo a seguir ante la sospecha de pseudotrombocitopenia inducida por EDTA.

De esta manera, el enfoque diagnóstico consiste en una serie de pasos dirigidos a confirmarlo.

1. Evaluación inicial: repetir el conteo plaquetario y realizar un frotis de sangre periférica a

partir de una nueva muestra venosa. Si se identifican agregados plaquetarios, se debe proceder con estudios confirmatorios.

2. Métodos confirmatorios:

- ♦ Conteo seriado de plaquetas y leucocitos (0, 60 y 120 minutos) en EDTA: se evalúa la caída progresiva de leucocitos, lo que apoya el diagnóstico.
- ♦ Histograma leucocitario: herramienta automatizada con alta sensibilidad (90%) y especificidad (100%). Presenta una curva anómala con ascenso rápido desde la izquierda.
- ♦ Conteo plaquetario inmediato a 37°C: evita los efectos de anticuerpos fríos y del tiempo en la agregación plaquetaria.
- ♦ Conteo en tubos con citrato: útil como prueba comparativa.
- ♦ Conteo en tubos con EDTA y kanamicina: previene la agregación plaquetaria, permitiendo un conteo automatizado preciso sin alterar otros parámetros hematológicos.

3. Aspirado de médula ósea: indicado sólo si persisten dudas diagnósticas, para descartar enfermedades hematológicas como síndromes mieloproliferativos o linfoproliferativos.

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES DEL CASO CLÍNICO.

En el caso analizado, se evidenció una caída significativa del recuento plaquetario entre dos controles sucesivos, lo que generó sospecha de trombocitopenia verdadera. Sin embargo, la ausencia de signos clínicos de sangrado, el buen estado general del paciente y la ausencia de cambios significativos en el resto de los parámetros hematológicos llevaron a considerar una posible incongruencia entre el hallazgo de laboratorio y el cuadro clínico.

Ante esta sospecha, se realizó un frotis de sangre periférica que mostró agregados plaquetarios, y se repitió la extracción utilizando distintos anticoagulantes. El recuento plaquetario fue normal en el tubo con citrato mientras que en el tubo con EDTA fue normal inicialmente, pero descendió progresivamente. Estos hallazgos permitieron confirmar que se trataba de un caso de pseudotrombocitopenia inducida por EDTA.

Aunque se trata de un fenómeno in vitro sin implicancias clínicas, su desconocimiento puede conducir a errores diagnósticos y terapéuticos importantes, tales como la solicitud de estudios invasivos o la indicación de tratamientos innecesarios.

PERSPECTIVA.

La interpretación de resultados de laboratorio en el contexto clínico exige una mirada crítica y una sólida articulación entre los distintos profesionales de la salud. En ocasiones, pueden surgir discrepancias entre los hallazgos analíticos y el cuadro clínico del paciente, lo que plantea un desafío diagnóstico que requiere atención especial.

Este caso pone de relieve la importancia de correlacionar críticamente los resultados de laboratorio con el cuadro clínico del paciente, y destaca la importancia del trabajo interdisciplinario entre médicos, hematólogos y bioquímicos, con el fin de contextualizar adecuadamente los resultados de laboratorio y evitar intervenciones clínicas innecesarias.

Además, resulta fundamental implementar protocolos específicos para la detección de fenómenos artefactuales, junto con instancias de formación continua que permitan al equipo de salud reconocer e interpretar adecuadamente estas situaciones.

Estas medidas no solo ayudarían a evitar errores diagnósticos, sino también a optimizar recursos y brindar una atención más segura y eficiente.

Bibliografía

- Carrillo ER, Morales VN, Ramírez RFJ. «Pseudotrombocitopenia: reporte de un caso y revisión de la bibliografía.» *Med Int Mex* 25, nº 2 (2009): 163-8.
- Lim E, Lim C. «The Phantom Platelet Problem: Unmasking Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)-Induced Pseudo-Thrombocytopenia.» *Cureus* 17, nº 3 (Marzo 2025): 1-4.
- Reyes-Peña IM, Ávila-Zambrano JD, Villacrés-Mosquera LF. «Pseudotrombocitopenia.» *Hematol Mex* 20, nº 2 (abril-junio 2019): 142-145.
- Tangella A, Peta R, Yadlapalli D C, et al. «Ethylene Diamine Tetra Acetate-Induced Pseudo Thrombocytopenia (EDTA-PTCP) in an.» *Cureus* 15, nº 5 (Mayo 2023): 1-10.
- Zhang Y, Chen B, Feng J, Yu W, Liang W, Li M, Zhai G, Yan M. «Effects of time, anticoagulant and detection channel on platelet count in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)-dependent pseudothrombocytopenia.» *PeerJ* 13 (2025): 1-13.

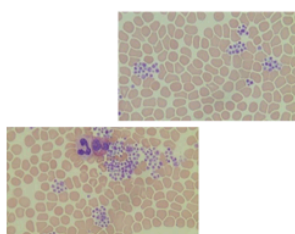
PSEUDOTROMBOCITOPENIA INDUCIDA POR ÁCIDO ETILENDIAMINOTETRAACETATO (EDTA)

Gobo, Valentina¹; Rodríguez Fabian²; Bolatti, Elisa¹; Cavatorta, Ana Laura¹.

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Hospital Privado SADIV

Introducción

La trombocitopenia es un hallazgo hematológico definido por un recuento de plaquetas inferior a 150.000/mm³, esta condición puede ser el reflejo de diversas patologías. Sin embargo, en ocasiones, se observan recuentos bajos debido a fenómenos in vitro, llamado pseudotrombocitopenia. La forma más común es la inducida por EDTA, en la que este anticoagulante altera la membrana plaquetaria, exponiendo epítomos que permiten la unión de autoanticuerpos y generan agregados que el contador no reconoce, produciendo un recuento falsamente bajo.



	PSEUDOTROMBOCITOPENIA	TROMBOCITOPENIA
ORIGEN	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>
FROTIS	AGREGADOS PLAQUETARIOS	DISMINUCIÓN REAL DE PLAQUETAS
SÍNTOMAS	AUSENTES	HEMORRAGIA, PÚRPURA
REQUIERE TRATAMIENTO	NO	SI
CAMBIA CON CITRATO/HEPARINA	SI	NO

Caso clínico

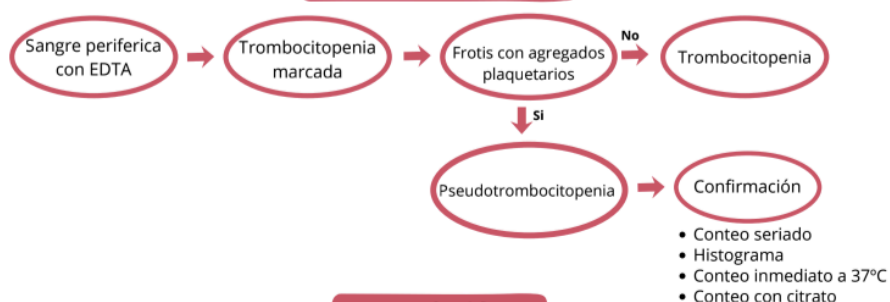
Paciente masculino de 38 años ingresa por guardia el 11/03/2025 con una gastroenteritis aguda con deshidratación. Se le realizan laboratorio y ecografía, permanece en observación unas horas y es dado de alta con indicación de control a las 48 horas. En el control del 13/03/2025 se le repite el laboratorio completo, observándose una disminución significativa en el recuento de plaquetas sin otras particularidades y buena evolución clínica.

	11/03/2025	13/03/2025
PLAQUETAS	149.000/mm ³	38.000/mm ³

→ ¿Trombocitopenia verdadera?

La ausencia de signos clínicos de sangrado, el buen estado general del paciente y la ausencia de cambios significativos en el resto de los parámetros hematológicos llevaron a considerar una posible incongruencia entre el hallazgo de laboratorio y el cuadro clínico.

Algoritmo diagnóstico



Conclusión

En este caso, la aplicación del algoritmo diagnóstico permitió confirmar que se trataba de una pseudotrombocitopenia inducida por EDTA, y no de una trombocitopenia verdadera. Si bien se trata de un fenómeno estrictamente in vitro sin implicancias clínicas, su desconocimiento puede conducir a errores diagnósticos y terapéuticos importantes, incluyendo la realización de estudios invasivos innecesarios o la indicación de tratamientos inapropiados. Por ello, resulta fundamental implementar protocolos específicos para la detección de fenómenos artefactuales, junto con instancias de formación continua que permitan al equipo de salud reconocer e interpretar adecuadamente estas situaciones.

Universidad Nacional de Rosario (UNR)
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FBioyF)
Práctica Profesional Obligatoria
Año 2025

Plasma rico en plaquetas y su aplicación en el
campo de la medicina estética

Alumna: Peralta, Josefina Luz

Tutor: Dr. Rodríguez Araya, Elvio (Área Parasitología)

Institución de rotación: Laboratorio RegenAr (Casilda, Santa Fe)

PRESENTACIÓN

En este trabajo se abordarán temas relacionados con la utilización de plasma rico en plaquetas como elemento innovador en la medicina regenerativa, particularmente, con un enfoque dirigido a la medicina estética de uso capilar y facial. Para ello, se analizó la evolución de cuatro pacientes que recibieron el tratamiento, dos destinados al uso facial y otros dos para aplicación capilar.

El procedimiento y los resultados serán plasmados en este escrito a fin de constatar y comentar las experiencias de cada uno de ellos y los cambios evidenciados luego de cumplir con el tratamiento durante un período de tiempo considerable.

MARCO TEÓRICO

Plasma rico en plaquetas (PRP)

Se trata de un producto autólogo que consiste en una fracción de plasma obtenido por centrifugación de la sangre entera, donde se concentran las plaquetas en un volumen limitado. Es rico en factores de crecimiento y proteínas que actúan a nivel de la adhesión tisular, proporcionando soporte estructural para la migración celular, proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa. El uso terapéutico del PRP en procedimientos quirúrgicos, traumatológicos, oftalmológicos, e incluso en la medicina estética, se basa en la liberación de los factores y moléculas bioactivas, luego de la activación de la plaqueta en el sitio de implantación.

Plaquetas: estructura y contenido

Las plaquetas son fragmentos celulares anucleados que derivan del citoplasma de los megacariocitos de la médula ósea. Están implicadas principalmente en la mantención de la integridad vascular y la formación de un tapón hemostático para frenar el sangrado frente cualquier situación que active la cascada de coagulación. Para ello, la superficie plaquetaria juega un rol crucial de contacto, primero asegurando la adhesión a los componentes del subendotelio expuesto y luego favoreciendo la agregación y formación del trombo plaquetario.

La plaqueta normal, con su forma discoide, al activarse se transforma en una esfera con protrusiones filamentosas largas y delgadas gracias a la tromboastenina, proteína contráctil compuesta por miosina y actina, y a la tropomiosina.

La reacción de liberación es una actividad específica de la plaqueta que concluye con la secreción del contenido de los gránulos plaquetarios, acompañado de profundos cambios estructurales hasta quedar completamente desgranulada. Esta liberación puede ser inducida por el contacto con cuerpos extraños, como el colágeno; por la formación de agregados plaquetarios; y/o por enzimas proteolíticas como la trombina.

En el interior de la plaqueta se hallan los gránulos densos, conteniendo agonistas plaquetarios como ADP y ATP (utilizados en el metabolismo plaquetario y reacción de liberación); Mg^{2+} ; Ca^{2+} ; serotonina; y ciclooxigenasas que convierten el ácido araquidónico, derivado de los fosfolípidos de la membrana, en endoperóxidos o prostaglandinas. Especialmente, el PGH₂ es quien se transforma en tromboxano A₂, vasoconstrictor y agregante plaquetario; y en prostaciclina (PGI₂), vasodilatador y agregante. Por otro lado, tenemos a los gránulos alfa que envuelven a los factores de crecimiento; proteínas de adhesión; receptores, fibrinógeno; fibronectina; entre otros. Dentro de los factores de crecimiento más involucrados en el uso de PRP se encuentran: TGF-beta (Factor de Crecimiento Transformante beta) atrae fibroblastos y estimula directamente la síntesis de colágeno; el PDGF (Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas) es un importante quimiotáctico y estimulante de otras células para la producción de más factores, incluido el TGF-beta; FGF (Factor de Crecimiento Fibroblástico); IFG (Factor de Crecimiento similar a la Insulina) estimula la proliferación y diferenciación de células mesenquimales, y aumenta la síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno tipo 1; el VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular) actúa sobre la quimiotaxis y proliferación de células endoteliales y aumenta la permeabilidad vascular; y el EGF (Factor de Crecimiento Epidérmico) actúa en la síntesis de colágeno y epitelización.

Obtención

La obtención del PRP debe realizarse en condiciones asépticas, ya que al ser aplicados intradérmica, intraarticular o intraoperatoriamente, debe respetar las Buenas Prácticas de Manufactura para garantizar un producto de buena calidad y seguro.

Existen dos tipos de sistemas para la obtención: sistemas cerrados, que constan de bolsas de sangre que, post centrifugación, se separa la fracción rica en plaquetas sin

romper el aislamiento de la muestra. Y sistemas abiertos, que utilizan tubos de extracción y requieren de una cabina de flujo laminar para realizar la separación en condiciones estériles. Este último es el más utilizado.

Previamente, cada paciente debe cumplir con las indicaciones preanalíticas correspondientes, que incluyen un ayuno mínimo de 4 horas, evitando especialmente la ingesta de alimentos grasos para prevenir la lipemia, la cual puede interferir en la correcta identificación y separación del plasma. Asimismo, se indica suspender la administración de medicamentos que alteren la función plaquetaria, como el ácido acetilsalicílico (ibuprofeno), ya que estos pueden comprometer la eficacia del tratamiento.

El procedimiento comienza con una extracción de sangre venosa al vacío utilizando, dependiendo del sistema, bolsas de recolección o tubos con anticoagulante citrato

de sodio al 3,8% o ácido cítrico, citrato y dextrosa (ACD), y agujas que acompañen la técnica, como aquellas de colecta múltiple o mariposas para colecta *multiple safety lock*. Se debe procurar no mantener el torniquete por más de dos minutos, ya que se produciría éxtasis venoso, lo cual conduciría a la activación plaquetaria.

Posteriormente, la muestra de sangre entera recientemente recolectada debe ser centrifugada para obtener las fracciones constituyentes. Este paso es clave para la técnica a realizar. Al recolectar una muestra de sangre en un tubo con anticoagulante, se separa en sus fases constituyentes, quedando

los glóbulos rojos sedimentados, separados del plasma por una capa leucocitaria y de plaquetas. El PRP corresponde al tercio inferior de plasma que se encuentra sobre la capa leucocitaria post centrifugación; siendo que los dos tercios superiores del mismo corresponden a la fracción pobre en plaquetas (Fig. 1).

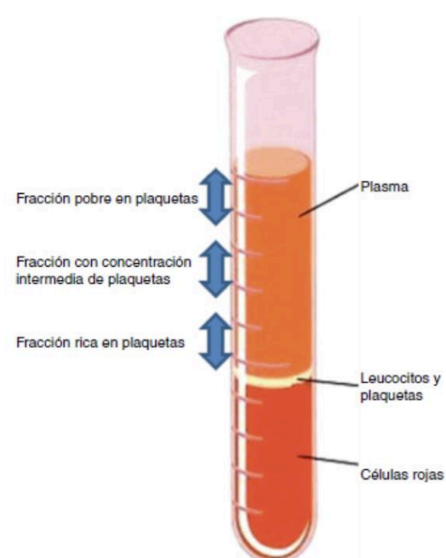


Fig. 1: Separación de los componentes sanguíneos en tubo con anticoagulante.

Previamente, la centrífuga tiene que ser calibrada por el laboratorio de manera de conocer la mejor combinación de r.p.m. y tiempo que lograrán el mejor rendimiento de plaquetas superando el recuento plaquetario basal. La calibración se lleva a cabo probando diferentes combinaciones de r.p.m. y tiempos y calculando sus rendimientos con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \text{recuento de plaquetas PRP} \times 100 / \text{recuento plaquetas sangre total}$$

Como último paso previo a la aplicación, en campana o en condiciones estériles, se recolecta la fracción de PRP utilizando jeringas de 1, 3 o 5 ml a elección, quedando así la muestra lista para la inmediata aplicación al paciente teniendo en cuenta que los factores plaquetarios son lábiles y podrían perderse si la muestra no se aplica con prisa.

PRP aplicado a medicina estética

En el envejecimiento se modifican tanto el volumen como la textura de la piel. Por ejemplo, el ácido hialurónico, que forma parte de los glicosaminoglicanos (GAGs) de la matriz extracelular, disminuye un tercio a lo largo de la vida, por lo que la piel pierde turgencia, ya que no solo aporta firmeza, sino también volumen a la dermis, por su capacidad de fijar agua. Por lo tanto, el fundamento para la utilización de PRP se basa en la bioestimulación cutánea, no solo estimulando al fibroblasto para que ejerza todas sus funciones, sino a todo el tejido que lo sostiene.

Cuando la referencia del paciente es la flacidez y presencia de arrugas finas, la aplicación de PRP es ideal para estos casos, ya que al aumentar la síntesis de matriz dérmica se produce una actividad metabólica significativa que lleva a la reactivación de tejido, mejorando la apariencia de la piel mediante bioestimulación fibroblástica y vascular. Se indica la aplicación localizada en zonas de cara, cuello, escote y manos.

Por otro lado, también es utilizado en casos de alopecia androgénica en donde, progresivamente, se produce la pérdida de cabello en zonas frontotemporal y vértex, ocasionadas por alteraciones en el ciclo del crecimiento capilar; muerte de células madres a nivel de los folículos pilosos y/o disminución del tamaño de los mismos. El uso de PRP capilar se fundamenta en la unión de los factores de crecimiento plaquetarios a sus receptores en las células del folículo, logrando así promover la proliferación de células de la papila dérmica protegiéndolas de la apoptosis y

estimulando el alargamiento del pelo; el desarrollo de fibras de colágeno, fibroblastos, elastina y ácido hialurónico; el incremento del grosor del epitelio y del número de vasos sanguíneos que irradian la periferia del folículo, logrando mejorar la calidad del cabello y deteniendo la caída del mismo.

RESULTADOS

Se evaluó el progreso de cuatro pacientes que asistieron al laboratorio para someterse a un tratamiento con plasma rico en plaquetas (PRP).

Para dar inicio, se recolectó sangre venosa en tubos de 8,5 mL con anticoagulante ACD-A. Posteriormente, las muestras se sometieron a un proceso de centrifugación a 1000 r.p.m. durante 10 minutos, utilizando una centrífuga modelo Arcano 80-2B. Este procedimiento permite aislar la fracción plasmática rica en plaquetas, con una concentración aproximadamente tres veces superior al recuento basal.

A continuación, y con el objetivo de mantener las condiciones de bioseguridad y asepsia, el PRP es manipulado dentro de una cabina de flujo laminar, donde se transfiere cuidadosamente a jeringas de 5 mL, recolectando 4 mL de producto entre los tres o cuatro tubos de muestra obtenidos.

En los casos de aplicación capilar, el plasma se administró en conjunto con un masajeador que genera vibraciones sobre el cuero cabelludo. Este dispositivo tiene como finalidad reducir la percepción del dolor durante la punción, haciendo el procedimiento más tolerable para el paciente.

Se presentan dos casos de uso capilar:

Caso 1:



Fig. 2: Evolución del paciente 1 durante las sesiones de tratamiento con PRP. De izquierda a derecha: día 1, día 45, día 80.

Caso 2:



Fig. 3: Evolución del paciente 2 durante las sesiones de tratamiento con PRP. De izquierda a derecha: día 1, día 40, día 80.

Adicionalmente, se llevó a cabo el análisis del uso de 4 mL de plasma rico en plaquetas (PRP) para su aplicación en las zonas de rostro, cuello y escote, en combinación con la técnica de micropunción asistida por dispositivo Dermapen. Esta modalidad busca optimizar la absorción del PRP en las capas superficiales de la piel, potenciando así los efectos regenerativos del tratamiento.

Previamente a la aplicación, se realiza una preparación tópica de la piel mediante la colocación de una crema anestésica compuesta por lidocaína al 23% y tetracaína al 7%, con el objetivo de minimizar las molestias asociadas al procedimiento y mejorar la tolerancia del paciente.

Caso 3:



Fig. 4: Evolución del paciente 3 durante las sesiones de tratamiento con PRP (lado derecho). De izquierda a derecha: día 1, día 50, día 80.



Fig. 5: Evolución del paciente 3 durante las sesiones de tratamiento con PRP (lado izquierdo). De izquierda a derecha: día 1, día 80.

Caso 4:



Fig. 6: Evolución del paciente 4 durante las sesiones de tratamiento con PRP. De izquierda a derecha: día 1, día 80.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Aplicación de PRP en zona capilar

Los pacientes fueron sometidos a un protocolo de tratamiento con PRP durante un período de tres a cuatro meses, con una aplicación mensual. Al inicio del tratamiento, se observaba un cabello visiblemente debilitado, fino, quebradizo y con áreas de alopecia, particularmente localizadas en la región central del cuero cabelludo (Fig. 2-día 1 y Fig. 3-día 1).

A lo largo de las sesiones, los cambios fueron progresivamente evidentes. Se registró una mejora significativa en la calidad del cabello, el cual presentó mayor

fortaleza estructural (Fig. 2-día 80 y Fig. 3-día 80). Asimismo, las zonas previamente despobladas comenzaron a mostrar signos claros de regeneración capilar. Los pacientes manifestaron notar los cambios y su conformidad respecto al tratamiento, indicando un aumento en la densidad capilar, mayor grosor del cabello y un aspecto más saludable y con movimiento.

Aplicación de PRP en zona facial

En el caso de los tratamientos faciales, las pacientes también recibieron una aplicación mensual durante un período de tres a cuatro meses. Los resultados obtenidos reflejan mejoras notables en la calidad de la piel, particularmente en lo referente a la atenuación de arrugas finas y manchas cutáneas (Fig. 4; Fig. 5 y Fig. 6).

Se evidenció un incremento en la luminosidad, tonicidad y frescura del rostro, con una visible reducción de las líneas de expresión, especialmente en las zonas periorbitales (“patas de gallo”) y los surcos nasogenianos (Fig. 4-día 80; Fig. 5-día 80 y Fig. 6-día 80). En particular, en el caso clínico número tres, se observó una reducción significativa en la intensidad de las manchas hiperpigmentadas localizadas en la región malar (mejillas), logrando aclarar notablemente aquellas de mayor pigmentación y eliminar las más leves (Fig. 4-día 50; Fig. 4-día 80 y Fig. 5-día 80).

PERSPECTIVAS

El PRP ha emergido como una de las terapias regenerativas más prometedoras dentro del ámbito de la medicina estética, tanto en tratamientos faciales como capilares y corporales. Su aplicación se basa en el uso autólogo del propio plasma del paciente, concentrado con plaquetas, que contiene factores de crecimiento capaces de estimular la regeneración celular, la producción de colágeno y la revitalización de tejidos.

En el área facial, el PRP se utiliza principalmente para mejorar la calidad de la piel, reducir líneas finas de expresión, mejorar la textura, el tono y la luminosidad, así como para tratar cicatrices de acné. Se recomienda por el hecho de tratarse de una alternativa natural y segura frente a otros procedimientos estéticos más invasivos.

En el área capilar, el PRP ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de la alopecia androgénica tanto en hombres como en mujeres. La aplicación del producto en el

cuero cabelludo estimula los folículos pilosos, prolongando la fase de crecimiento activo y mejorando el grosor y la densidad del pelo.

A futuro se espera un mayor uso y demanda de esta terapia regenerativa, no solo por su efectividad sino también por su seguridad como material biológico autólogo, reduciendo así significativamente el riesgo de reacciones alérgicas o efectos secundarios.

A medida que avanza la investigación, se espera una mayor precisión en los protocolos de aplicación, mejores resultados clínicos y una mayor aceptación por parte de los pacientes que buscan tratamientos regenerativos, seguros y personalizados.

BIBLIOGRAFÍA

- Arcuri, A. (2023) Plasma y fibrina ricos en plaquetas: Recuperación de tejidos con factores estimulantes del crecimiento. Ediciones Journal.
- Bioq. Fornasiero, L. (2023) Curso plasma rico en plaquetas: Fundamentos; legislación, técnicas y usos. Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Santa Fe. Segunda Circunscripción.
- Etulian, J. (2016) Plasma rico en plaquetas (PRP): Mecanismo de acción. Revista Debate. Hematología. Volumen 20. (91-103)
- Meijie Z. (2018) Applications and efficacy of platelet-rich plasma in dermatology: A clinical review. Journal of Cosmetic Dermatology. DOI: 10.1111/jocd.12673
- Ghazala B. (2018) Efficacy of platelet-rich plasma in androgenetic alopecia patients. Journal of Cosmetic Dermatology. DOI: 10.1111/jocd.12810

PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y SU APLICACIÓN EN EL CAMPO DE LA MEDICINA ESTÉTICA

Peralta, Josefina Luz¹; Giusti, Agustina²; Rodríguez Araya, Elvio¹

¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas - UNR. ²Laboratorio RegenAr - Casilda, Santa Fe.



INTRODUCCIÓN: Plasma rico en plaquetas.

Producto autólogo consistente en una fracción de plasma obtenido por centrifugación de la sangre entera, donde se concentran las plaquetas en un volumen limitado. Es rico en factores de crecimiento y proteínas que actúan a nivel de la adhesión tisular, proporcionando soporte estructural para la migración celular, proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa. El uso terapéutico del PRP se basa en la liberación y acción de los factores y moléculas bioactivas, luego de la activación de la plaqueta en el sitio de implantación.

Algunos factores de crecimiento involucrados:

IGF-1 - Factor de Crecimiento similar a la insulina: - Estimula la síntesis de proteínas. - Promueve la curación de heridas y estimula la proliferación de queratinocitos y fibroblastos dérmicos.	VEGF - Factor de Crecimiento Endotelial Vascular: - Actúa sobre la quimiotaxis y proliferación de células endoteliales. - Aumenta la permeabilidad vascular.	PDGF - Factor de Crecimiento Derivado de Plaqueta: - Estimula la activación de macrófagos y angiogénesis. - Mejora y acelera la síntesis de colágeno. - Acelera la proliferación de fibroblastos. - Fomenta la proliferación de células óseas.	TGFβ - Factor de Crecimiento Transformante beta: - Mejora la proliferación de los fibroblastos. - Estimula la biosíntesis de colágeno tipo I y fibronectina. - Induce la deposición de matriz ósea. - Inhibe la formación de los osteoclastos y la resorción ósea.
--	--	--	--

El fundamento para aplicación de PRP en zonas localizada de cara, cuello y escote se basa en la bioestimulación cutánea, no solo estimulando al fibroblasto para que ejerza todas sus funciones, sino a todo el tejido que lo sostiene. Idealmente en casos de flacidez y presencia de arrugas finas, ya que al aumentar la síntesis de matriz dérmica se produce una actividad metabólica significativa que lleva a la reactivación de tejido, mejorando la apariencia de la piel mediante bioestimulación fibroblástica y vascular.

Por otro lado, en casos de alopecia androgénica donde, progresivamente, se produce la pérdida de cabello en zonas frontotemporal y vértex, ocasionadas por alteraciones en el ciclo del crecimiento capilar; muerte de células madres a nivel de los folículos pilosos y/o disminución del tamaño de los mismos, el PRP logra promover la proliferación de células de la papila dérmica protegiéndolas de la apoptosis y estimulando el alargamiento del pelo; el desarrollo de fibras de colágeno, fibroblastos, elastina y ácido hialurónico; incrementando el grosor del epitelio y el número de vasos sanguíneos que irradian la periferia del folículo, logrando mejorar la calidad del cabello.

MATERIALES Y MÉTODOS

- 1- Extracción con agujas de colecta *multiple safety lock*.
- 2- Recolección de sangre venosa en tubos con anticoagulante ACD-A de 8.5 mL.
- 3- Centrifugación en centrífuga Arcano 80-2B 10 minutos a 1000 r.p.m.
- 4- En cabina de flujo laminar, para mantener las condiciones de bioseguridad y esterilidad de la muestra, se separa el PRP utilizando jeringas de 5 mL.
- 5- Aplicación en zonas:

- Capilar: jeringas de 5mL con agujas 30Gx13 mm. Masajeador 24k golden energy beauty bar - Modelo BM-1.
- Facial: jeringas de 5mL con agujas 30Gx13 mm. Dispositivo Dermapen (técnica de micropunción asistida).



Fig. 1: Cabina de flujo laminar.



Fig. 2: Centrífuga Arcano 80-2B.



Fig. 3: Masajeador 24k golden energy beauty bar - Modelo BM-1.



Fig. 4: Dispositivo Dermapen.

RESULTADOS:

Se estudiaron dos casos de utilización de PRP en zona capilar (Fig. 5 y Fig. 6) y dos de uso facial (Fig. 7, Fig. 8 y Fig. 9):



Fig. 5: Evolución del paciente 1 durante las sesiones de tratamiento con PRP. De izquierda a derecha: día 1, día 45, día 80.



Fig. 6: Evolución del paciente 2 durante las sesiones de tratamiento con PRP. De izquierda a derecha: día 1, día 40, día 80.



Fig. 7: Evolución del paciente 3 durante las sesiones de tratamiento con PRP (lado derecho). De izquierda a derecha: día 1, día 50, día 80.



Fig. 8: Evolución del paciente 3 durante las sesiones de tratamiento con PRP (lado izquierdo). De izquierda a derecha: día 1, día 80.

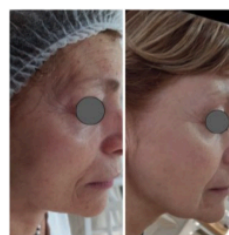


Fig. 9: Evolución del paciente 4 durante las sesiones de tratamiento con PRP. De izquierda a derecha: día 1, día 80.

CONCLUSIONES:

Luego de someterse al tratamiento durante un período de tres a cuatro meses, realizando una aplicación mensual, se evidenciaron las mejoras correspondientes.

Pacientes con alopecia androgénica (Fig. 5 y Fig. 6) - Mejora en la calidad del cabello. - Mayor fortaleza estructural. - Aumento en la densidad capilar. - Mayor grosor y movimiento del cabello. - Las áreas desprovistas mostraron signos claros de regeneración capilar.	Pacientes que recibieron tratamiento facial (Fig. 7, Fig. 8 y Fig. 9) - Atenuación de arrugas y manchas cutáneas. - Incremento en la luminosidad, tonicidad y frescura del rostro. - Reducción de líneas de expresión en zonas periorbitales ("patas de gallo") y surcos nasogenianos. - Aclaración de manchas hiperpigmentadas en región malar y eliminación de las más leves. (Fig. 7 y Fig. 8).
---	--

Universidad Nacional de Rosario (UNR)
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FBioyF)
Práctica Profesional Obligatoria
Año 2025

La piel como pista diagnóstica: fusariosis en
paciente oncohematológico con neutropenia febril

Alumna: Brunelli, Lucía; Castagnola, Brisa.

Tutor: Maroni, Georgina

Institución de rotación: Hospital Provincial de Rosario

PRESENTACIÓN:

Paciente masculino de 23 años, diagnosticado con leucemia mieloide aguda en remisión, consultó a la guardia externa del Hospital Provincial de Rosario por presentar fiebre y un hematoma en la región glútea derecha posterior a inyección intramuscular debido a mialgias generalizadas, en contexto de pasaje de hemoderivados y factor estimulante de colonias.

Debido al antecedente y la presencia de neutropenia febril de alto riesgo con posible foco infeccioso, tomaron la conducta de internación inmediata con pautas para paciente neutropénico: aislamiento, exámenes de laboratorio, orina completa, urocultivo, hemocultivos, portación de gérmenes multirresistentes, tomografía de senos paranasales, tórax, abdomen, pelvis, glúteo e inmediato inicio de antibioticoterapia empírica.

Al día siguiente del ingreso, el servicio de hematología indicó transfusión de glóbulos rojos y plaquetas irradiadas y filtradas. Un examen de médula ósea confirmó recaída de la leucemia aguda.

Al mismo tiempo, el paciente refirió trastorno visual en el ojo izquierdo por el cual el servicio de oftalmología constató hemorragia prerretiniana, que fue evaluando diariamente mediante fondo de ojo.

A la semana de su ingreso, el paciente presentó bacteriemia a *Staphylococcus epidermidis* oxacilina resistente asociada a tromboflebitis superficial, por lo que postergaron el inicio de la quimioterapia hasta presentarse afebril y completar el esquema con vancomicina de 7 días.

Al día tres de la quimioterapia presentó pancitopenia severa secundaria seguida por episodios de fiebre persistente. Nuevamente, se rescató *Staphylococcus epidermidis* con foco en piel e infección asociada a catéter, por lo que se inició esquema de 7 días con vancomicina.

Al décimo sexto día del tratamiento, el paciente presentó múltiples lesiones cutáneas localizadas en piel, faneras y escroto, de tipo papulovesicular, con centro necrótico, borde eritematoso, morfología polimorfa y dolorosas a la palpación, en el contexto de un nuevo episodio de neutropenia febril. El servicio de dermatología solicitó biopsia de piel y toma de muestras para cultivo de gérmenes comunes y micológicos. Indicaron tratamiento empírico de amplio espectro, con cobertura bacteriana, viral y fúngica, sumado al soporte transfusional.

De los cultivos de biopsia de piel rescataron *Fusarium spp.*, por lo que se ajustó el tratamiento antifúngico, iniciando con anfotericina B y continuando con voriconazol.

El paciente presentó disminución de agudeza visual e interrupción del sueño nocturno por dolor ocular derecho, por lo cual se sospechó de endoftalmitis micótica. Se tomaron muestras de humor acuoso para cultivo y PCR para virus e indicaron inyección intravítrea de voriconazol con evaluación diaria. Presentó mejoras en cuanto al dolor pero no recuperó la visión.

Luego de la terapia, el paciente mostró mejoras en las lesiones de piel, evolucionó afebril, clínica y hemodinámicamente estable, por lo que se acordó el alta hospitalaria.

MARCO TEÓRICO:

Las leucemias mieloides agudas (LMA) conforman un grupo heterogéneo de neoplasias clonales que surgen de la transformación maligna de las células hematopoyéticas. Se caracterizan por la presencia de células anormales e inmaduras (blastos) en la médula ósea y en la sangre, lo cual provoca fallo medular (anemia, neutropenia y trombocitopenia) e infiltración de órganos, principalmente hígado y bazo. Se pueden sospechar por la observación morfológica del aspecto de los blastos en el frotis de sangre periférica, y se confirman por inmunofenotipo y estudios citogenéticos y moleculares. Una de las complicaciones asociadas a las LMA son las hemorragias debidas a la plaquetopenia. Es habitual la existencia de hematomas espontáneos, siendo este el principal motivo de consulta.

El tratamiento debe ser capaz de eliminar no solo la leucemia visible (remisión completa) sino también el clon leucémico, que en la mayoría de los casos prolifera y conduce a una recidiva. La quimioterapia tiene dos objetivos definidos: alcanzar la remisión completa y eliminar la enfermedad mínima residual para evitar recaídas.

Cada ciclo de quimioterapia es seguido por una fase de aplasia medular, que conlleva riesgo alto de complicaciones infecciosas y se asocia a una alta morbimortalidad. La fiebre en un paciente neutropénico representa una urgencia infectológica. Esta situación requiere la implementación inmediata de decisiones diagnósticas y terapéuticas, las cuales deben ser revisadas y actualizadas de forma periódica. El tratamiento, además, precisa medidas de soporte intensivas, como transfusiones, aislamiento y uso de factores estimulantes de colonias.

La principal causa de fiebre en pacientes con neutropenia son las infecciones. Los neutrófilos tienen un papel crítico en la defensa del huésped contra bacterias, hongos y otros patógenos, por lo que es relevante el número, la velocidad de descenso y la duración de la neutropenia, ya que cuanto más prolongado sea el episodio, mayor será la posibilidad de presentar una complicación infecciosa. Según la Sociedad Americana de Infectología, la neutropenia febril se clasifica como un recuento de neutrófilos menor a $500/\text{mm}^3$ o un recuento menor a $1000/\text{mm}^3$ si se espera un descenso por debajo de $500/\text{mm}^3$. Este valor debe ser acompañado por una temperatura axilar igual o superior a $38,3^\circ\text{C}$ en una ocasión o mayor a 38°C durante al menos una hora.

La fiebre puede ser el único indicativo de infecciones graves con consecuencias mortales y provocar un empeoramiento en el estado de salud. La anamnesis y la exploración física deben dirigirse a descartar posibles causas de fiebre de origen no infeccioso, proponer los microorganismos más probables y prever las posibles complicaciones.

Es necesario averiguar la situación de la enfermedad de base que tenga el paciente (activa o en remisión), el tratamiento citostático utilizado, la existencia de factores inmunosupresores adicionales, las infecciones previas y las pautas de antibióticos empleados.

Las guías recomiendan que se efectúen minuciosos exámenes físicos, se deben tomar hemocultivos de sangre periférica y urocultivo. Se sugiere, además, tomar cultivo de cualquier lesión sospechosa, con la mínima expresión clínica, y realizar una radiografía de tórax al ingreso, ya que es un elemento útil para observar la evolución del paciente. Una vez tomados los cultivos, la terapia empírica antibiótica debe ser iniciada precozmente. En la elección del esquema antibiótico inicial se debe considerar el tipo, la frecuencia y la susceptibilidad de los aislamientos bacterianos recuperados de otros pacientes en la institución. A las 72 horas, el paciente debe ser reevaluado, considerando una serie de factores como los neutrófilos, la persistencia o no de la hipertermia, la documentación microbiológica y la presencia de foco clínico o radiológico.

El tiempo promedio de desaparición de la fiebre entre pacientes de bajo riesgo es de 2 días y de 5-7 días en aquellos de alto riesgo. Si el paciente llega al sexto día neutropénico febril, sin documentación microbiológica ni foco clínico, debe agregarse

en forma empírica terapia antifúngica. Anfotericina B es la droga usualmente de elección y la duración de la misma varía: si una infección sistémica ha sido identificada, la duración dependerá del agente causal; si no hay documentación, la duración de la terapia no es tan clara. Cuando la neutropenia se ha resuelto, el paciente está clínicamente estable y las tomografías de abdomen y pulmón no revelan lesiones sospechosas, la anfotericina B puede suspenderse.

Algunos de los cuidados generales para el paciente neutropénico son: internación en habitación individual, ducha diaria preferentemente con jabón neutro, cambio diario de ropa de cama (sin agitar las sábanas), mantenimiento de axilas, pliegues cutáneos, área rectal y perirrectal limpios y secos, uso de barbijo por parte del paciente si el mismo debe circular por el hospital, entre otros. Asimismo, es obligatorio para todo el personal el lavado de manos antes de asistirlo.

Es importante, en pacientes oncohematológicos con neutropenia febril, que se tenga en consideración no sólo infecciones de origen bacteriano, sino también virales o fúngicas. Dentro de estas últimas, *Candida* se destaca como el principal hongo levaduriforme implicado, mientras que *Aspergillus* ocupa el primer lugar entre los hongos filamentosos. A este le sigue *Fusarium*, un género de hongos hialinos con hifas septadas, que se halla ampliamente presente en el suelo, plantas y sustancias orgánicas. Entre todas las especies que integran el género, sólo unas pocas han sido reportadas como patógenas en humanos, a saber: *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. verticillioides*, *F. dimerum* y *F. proliferatum*. Entre estas, *F. solani* es la causante de la mitad de los casos reportados de fusariosis invasiva en humanos, lo cual se asocia a su gran virulencia.

El género *Fusarium* produce patologías a través de la capacidad de adherencia a biomateriales, como lentes de contacto y catéteres, de invadir tejidos mediante la producción de proteasas, elastasas y colagenasas y la producción de micotoxinas, que pueden suprimir la respuesta inmune adaptativa humoral y celular. A pesar de poseer estos factores de virulencia, necesita compromiso inmunológico del huésped para producir invasión e infección diseminada, debido a que el principal mecanismo de defensa es la fagocitosis con lisis de conidias y fragmentos de hifas. Asimismo, algunas especies pueden tener galactomananos en sus envolturas y excretarlos en forma activa.

Las principales puertas de entrada para *Fusarium spp.* son la inhalatoria, la cutánea u onicomycosis. Las infecciones sistémicas se pueden producir por la diseminación del microorganismo desde la puerta de entrada.

El mecanismo de adquisición en ocasiones es desconocido: es probable que el paciente esté colonizado antes de ingresar al hospital y posteriormente, con la presencia de neutropenia, desarrolle la infección que puede afectar a cualquier órgano, siendo los más frecuentes: pulmón, riñón, bazo, hígado, médula ósea, tracto gastrointestinal y senos maxilares. Además, puede causar endoftalmítis exógena o endógena, que es un proceso inflamatorio intraocular grave, el cual afecta tanto la cavidad vítrea como el segmento anterior del ojo. No solo conlleva un pobre pronóstico visual, sino que pone en riesgo la función e inclusive la integridad del globo ocular. Los signos y síntomas iniciales suelen ser sutiles y poco característicos, lo cual conduce a un diagnóstico equivocado y a una terapia ineficaz. El patrón más frecuente es la combinación de lesiones cutáneas que incluyen granulomas, úlceras, necrosis, queratosis con eritema, nódulos subcutáneos indurados con zona de necrosis central y micetomas.

El diagnóstico micológico se realiza mediante el aislamiento del hongo a partir de muestras clínicas de tejidos afectados: piel, córnea, sangre, esputo, hueso, entre otros. La biopsia para estudio histopatológico debe incluir tanto áreas superficiales como profundas de la lesión, con el fin de distinguir entre colonización e infección invasiva.

Fusarium spp. es muy difícil de identificar, debido a su marcada variabilidad en cuanto a sus características fisiológicas y morfológicas, las cuales dificultan el establecimiento de claves taxonómicas para el género. La mayoría de estas clasificaciones se basan en las características macro y microscópicas del cultivo, y también se puede utilizar MALDI-TOF para diagnóstico rápido y certero.

Crece rápidamente, entre 3 a 5 días, en medios como Sabouraud glucosa agar, formando colonias blanco-vellosas, a menudo con pigmentaciones características según la especie. Al microscopio se observan hifas hialinas, septadas, de 3 a 8 µm de grosor, ramificadas en ángulo de 45°, con zonas de constricción en los puntos de ramificación.

El tratamiento de la fusariosis invasiva representa un desafío, ya que la mayoría de las especies de *Fusarium* muestran resistencia relativa a múltiples antifúngicos. Las

opciones terapéuticas más eficaces incluyen: anfotericina B, voriconazol y posaconazol. El uso de terapia combinada (anfotericina B + voriconazol) puede considerarse en casos graves o refractarios, aunque los estudios no han demostrado sinergismo ni antagonismo claro.

Debido a la falta de ensayos clínicos, la estrategia óptima de tratamiento de la fusariosis permanece poco clara. La reversión de la inmunosupresión, en la medida de lo posible, es un componente esencial para mejorar el pronóstico.

RESULTADOS:

Tabla 1: Resumen de la evolución del hemograma.

Fecha	Hemoglobina (g/dL) VR: 14.1 ± 1	Hematocrito (%) VR: 44.0 ± 1.8	Neutrófilos (cel/mm³) VR: 2750 - 5850	Leucocitos (cel/mm³) VR: 5000 - 9000	Plaquetas (cel/mm³) VR: 150000 - 400000
24/02/25	6.1	17.4	280	680	1000
02/03/25	7.5	22.7	650	940	7000
15/03/25	8.3	25.5	120	140	12000
27/03/25	7.3	21.8	10	70	8000
03/04/25	7.4	22.8	1180	1280	8000
13/04/25	7.9	24.5	13330	14220	56000
21/04/25	9.0	28.6	1700	3080	103000

Tabla 2: Estudios microbiológicos.

24/02/25 (ingreso)	Hemocultivos x2: No se obtuvo desarrollo bacteriano a los 5 días de incubación. Portación de <i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistente: Negativo. Enterococo vancomicina resistente: Negativo. Portación de carbapenemasas en enterobacterias: Negativo. Urocultivo: Negativo.
-------------------------------	--

02/03/25	Hemocultivo x2 (1/2): <i>S. epidermidis</i> oxacilina resistente. Urocultivo: Negativo.
15/03/25	Hemocultivo x2: <i>S. epidermidis</i> oxacilina resistente. Retrohemocultivo: <i>S. epidermidis</i> oxacilina resistente, misma sensibilidad que hemocultivos del día 15/03. Cultivo punta de catéter: <i>S. epidermidis</i> oxacilina resistente, misma sensibilidad que hemocultivos del día 15/03.
26/03/25	Hemocultivo micológico: Negativo.
27/03/25	Biopsia de piel: ● Cultivo micológico: Se obtuvo desarrollo en caldo de enriquecimiento de <i>Fusarium spp.</i> ● Examen directo: No se observaron elementos fúngicos. Urocultivo: Negativo.
01/04/25	Hemocultivos x2: Negativos. Cultivo de líquido de punción: Negativo. Portación de <i>S. aureus</i> metilino resistente: Negativo.
08/04/25	Humor acuoso: ● Cultivo micológico de humor acuoso: No se obtuvo desarrollo. ● Examen en fresco: No se realizó por volumen escaso, se prioriza el cultivo. ● PCR Herpes virus tipo I/II, Varicela zoster: No detectable.
12/04/25	Hemocultivo x1: Negativo.
29/04/25	Biopsia de piel (control): ● Cultivo micológico: No se obtuvo desarrollo. ● Examen en fresco: No se observaron elementos fúngicos.

Estudios por imágenes:

- **TAC de senos paranasales, tórax, abdomen, pelvis y glúteo (24/02/25):**
Reticulación difusa de la grasa y tejido celular subcutáneo en glúteo izquierdo.
Resto sin particularidades.

- **Ecografía ocular derecha (08/04/25):** Flotantes vítreos más tracción vitrorretineal.

Otros:

- **Fondo de ojos (26/02/25):** Hemorragia prerretiniana izquierda.
- **Galactomanano sérico (06/03/25):** Negativo.
- **Galactomanano sérico (10/03/25):** Negativo.
- **Fondo de ojos (21/03/25):** Ojo derecho sin particularidades. Ojo izquierdo con mejoría de la hemorragia.
- **Galactomanano sérico (26/03/25):** Negativo.
- **Evaluación oftalmológica (27/03/25):** Hemorragia subconjuntival temporal e inferior en ojo derecho. Ojo izquierdo sin particularidades.
- **Galactomanano sérico (03/04/25):** Negativo.
- **Evaluación oftalmológica (05/04/25):** Ojo derecho: movimientos oculares conservados. Hemorragia subconjuntival total, turbidez vítrea, hemorragias viejas y nuevas. Ojo izquierdo: conjuntivas sin particularidades, mácula bordes netos, coroides con cicatrices.
- **Galactomanano sérico (09/04/25):** Negativo.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES:

El paciente presentó un cuadro de neutropenia febril en el contexto de la recaída de leucemia mieloide aguda. Luego del inicio del tratamiento quimioterápico, la fiebre persistente se acompañó de pancitopenia severa, condición frecuente tras la administración de quimioterapia en este tipo de patologías, esto conlleva alto riesgo de infecciones oportunistas. Por esta razón, se aplicaron medidas de soporte, aislamiento, vigilancia clínica estrecha y tratamiento empírico ampliado.

Posteriormente, aparecieron lesiones cutáneas papulovesiculosas con centro necrótico, en asociación con fiebre en contexto de neutropenia, esto se corresponde con las descripciones habituales de las manifestaciones clínicas de fusariosis cutánea. El cultivo micológico de la biopsia de piel permitió el aislamiento de *Fusarium spp.*, lo cual confirma la etiología fúngica de las lesiones y lleva a la modificación del tratamiento antifúngico.

Se desarrollaron, en simultáneo, síntomas oculares con hallazgos compatibles con endoftalmitis micótica, lo que se relaciona con la posibilidad de diseminación

hematógica del hongo, un mecanismo descrito para *Fusarium spp.* en pacientes inmunocomprometidos, raro pero severo. Si bien el cultivo de humor acuoso resultó negativo, la clínica oftalmológica y los antecedentes del paciente permitieron la indicación de tratamiento intravítreo.

La secuencia clínica y los hallazgos complementarios resultaron concordantes con los criterios diagnósticos establecidos para la fusariosis invasiva. La evolución, con mejoramiento hematológico y posterior negativización de los cultivos de control, se ajusta a lo esperado tras la instauración del tratamiento antifúngico de acuerdo con las guías actuales.

PERSPECTIVAS:

El abordaje de las infecciones fúngicas invasivas en pacientes inmunocomprometidos plantea desafíos que trascienden lo individual y se proyectan hacia el ámbito de la salud pública. La detección precoz y el tratamiento oportuno de estas infecciones contribuyen no solo a mejorar el pronóstico clínico, sino también a optimizar los recursos hospitalarios y minimizar las complicaciones asociadas.

En el marco de esta problemática, es necesario contar con más datos e información sobre las infecciones fúngicas y las resistencias a los antifúngicos para orientar y mejorar la respuesta a estos patógenos. En base a esto, se propone fortalecer la capacidad de laboratorio y la vigilancia, invertir en investigación, desarrollo e innovación y mejorar las intervenciones de salud pública para la prevención y el control.

El caso clínico presentado refleja la importancia de una respuesta interdisciplinaria sostenida, donde la coordinación entre hematología, infectología, dermatología, oftalmología, microbiología y bioquímica resulta fundamental. La comunicación efectiva entre disciplinas permite la detección de patrones clínicos y microbiológicos complejos, y posibilita una intervención más eficiente ante la sospecha de infecciones oportunistas. Resulta significativo destacar que la participación activa del bioquímico permite integrar la información de laboratorio en la toma de decisiones clínicas y facilita el ajuste temprano de terapias.

BIBLIOGRAFÍA:

Afeltra, J., Benso, J., Bernachea, M., Berruezo, L., Calmaggi, A., Costantini, P., Cozzi, J., Epelbaum, C., Herrera, F., Inda, L., Jordán, R., Laborde, A., López Papucci, S., Mónaco, A., Mora, A., Nenna, A., Nuñez, J., Otermin, F.,... Pereyra Acuña, ML. (2024). *Guías de recomendaciones sobre diagnóstico, tratamiento y prevención de infecciones en pacientes con cáncer 2024 / 1a ed.* <https://www.sadi.org.ar/publicaciones/1782-guias-de-recomendaciones-sobre-diagnostico-tratamiento-y-prevencion-de-infecciones-en-pacientes-con-cancer-2024>

Bonifaz, A. (2012). *Micología médica básica*. Mc Graw Hill. 4ta Edición.

García Messina, O., Angeleri, P. y Rodríguez, A. (2025). *Pautas en el manejo clínico del paciente neutropénico febril (primera parte)*. https://smiba.org.ar/revista/vol_04/04_02_05.htm

García Messina, O., Angeleri, P. y Rodríguez, A. (2025). *Pautas en el manejo clínico del paciente neutropénico febril (segunda parte)*. https://smiba.org.ar/revista/vol_04/04_03_03.htm

Hospital Italiano de Buenos Aires. (2014). *Guías para médicos: Neutropenia febril (versión final)*. [https://www.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_archivos/109/guias_para_medicos/109_Neutropeniafebrilguias2014versionfinal\(1\)\[1\].pdf](https://www.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_archivos/109/guias_para_medicos/109_Neutropeniafebrilguias2014versionfinal(1)[1].pdf)

Infectious Diseases Society of America; American Society of Clinical Oncology. (2018). *Outpatient management of fever and neutropenia in adults treated for malignancy: ASCO/IDSA clinical practice guideline update*. <https://www.idsociety.org/globalassets/idsa/practice-guidelines/outpatient-management-of-fever-and-neutropenia.pdf>

Moraleda Jiménez, J.M. (2017). *Pregrado de Hematología*. 4ta edición.

Riera, F., Celi, AP., Thompson, L. y Rabagliati, R. (2023). *Infecciones Fúngicas Sistémicas. Manual práctico*. 4º Edición. https://www.recfot.com.ar/assets/files/Riera-ycols_2023_InfeccionesFngicasSistmicas MANUALPRCTICO 4Edicin Librodigital.pdf

Organización Mundial de la Salud. (2022). *WHO releases first-ever list of health-threatening fungi*. <https://www.who.int/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi>

Organización Mundial de la Salud. (2022). *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*.
<https://iris.who.int/handle/10665/363682>

Tamez Peña, A., González González, LA., López Jaime, GR y Rodríguez García, A. (2010). *Endoftalmitis endógena por Fusarium spp. en un paciente con onicomycosis: reporte de un caso*.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexoft/rmo-2010/rmo102m.pdf>



LA PIEL COMO PISTA DIAGNÓSTICA: FUSARIOSIS EN PACIENTE ONCOHEMATOLÓGICO CON NEUTROPENIA FEBRIL



Brunelli, Lucia¹; Castagnola, Brisa¹; Martínez, Carolina²; Moncecchi, Laura²; Reschia, Andreína²; Scarafia, Leila²; Sorribas, Aranza^{1,2}; Palavecino, Andrea²; Maroni, Georgina¹.

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

INTRODUCCIÓN

La neutropenia febril se define por un recuento de neutrófilos $< 500/\text{mm}^3$ ($0 < 1000/\text{mm}^3$ con descenso previsto) acompañados de fiebre $\geq 38,3^\circ\text{C}$ o $> 38^\circ\text{C}$ por una hora. En pacientes oncohematológicos, la fiebre puede ser el único signo de infecciones graves, incluyendo causas bacterianas, virales o fúngicas.

Fusarium es un hongo ambiental de hifas septadas, oportunista, que en pacientes inmunocomprometidos puede diseminarse desde piel, uñas o vía inhalatoria y causar infecciones invasivas que afectan múltiples órganos, incluida la endoftalmitis.

CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 23 años con recaída de leucemia mieloide aguda, cursa con neutropenia febril severa. Durante la internación, desarrolla lesiones cutáneas con cultivo positivo para *Fusarium spp.*, junto con endoftalmitis micótica. Recibe tratamiento antifúngico y evoluciona con mejoría clínica y hematológica, logrando el alta.

RESULTADOS

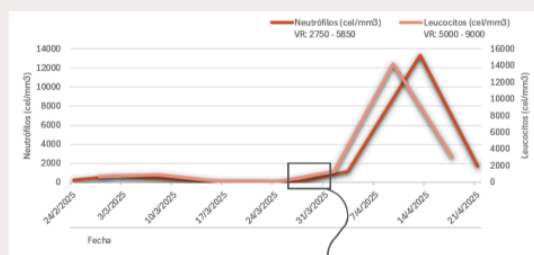


Figura 1: Variación en el tiempo de neutrófilos y leucocitos del paciente.



Figura 2: Cultivo de *Fusarium spp.* en medio agar nutriente sintético (SNA).



Figura 3: Cultivo de *Fusarium spp.* al microscopio óptico con azul de lactofenol 400x. Se observan macroconidios.



Figuras 4, 5, 6 y 7: Lesiones cutáneas localizadas en escroto, abdomen y ojo, de tipo papulovesicular, con centro necrótico, borde eritematoso, morfología polimorfa y dolorosas a la palpación.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La coexistencia de lesiones cutáneas necróticas y endoftalmitis en un paciente con neutropenia orienta a una fusariosis diseminada, una infección poco frecuente pero altamente agresiva.

La identificación microbiológica en biopsia de piel permitió dirigir el tratamiento y, tras instaurarse el mismo, se observó mejoría hematológica y negativización de los cultivos de control, conforme a lo esperado. La afección ocular, aún con cultivos negativos, es coherente con la diseminación hematogénica típica de *Fusarium spp.* en inmunocomprometidos.

PERSPECTIVAS

El caso expone la relevancia de una respuesta interdisciplinaria sostenida, cuya comunicación eficaz facilita la identificación de patrones clínico-microbiológicos complejos y optimiza la intervención frente a posibles infecciones oportunistas.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
ÁREA PRÁCTICAS PROFESIONALES OBLIGATORIAS
2025

Análisis comparativo de los medios diferenciales
CLDE y Chromagar para urocultivos en una
cohorte de pacientes internados en el HECA

- Autoras: Albrecht Paulina, Ratti Eliana
- Tutor: Germán R. Perez
- Institución: Hospital de Emergencias Dr. Clemente Álvarez

1. PRESENTACIÓN

Las infecciones del tracto urinario representan una de las principales causas de consultas y de internación en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes en estado crítico, donde la presencia de dispositivos invasivos y factores de riesgo predisponen a infecciones graves. La identificación temprana y precisa de los microorganismos uropatógenos es esencial para un tratamiento adecuado y para evitar complicaciones.

El urocultivo constituye el método de referencia para el diagnóstico microbiológico de las infecciones urinarias. La correcta elección del medio de cultivo permite optimizar la recuperación y diferenciación de los gérmenes, así como agilizar la interpretación de resultados. En este sentido, existen medios diferenciales como el Chromagar, que facilita la identificación presuntiva de ciertos uropatógenos mediante diferencias cromáticas, y el CLDE, tradicionalmente utilizado por su capacidad de inhibir el *swarming* de *Proteus* y favorecer el desarrollo de Enterobacterias y otros bacilos Gram negativos.

El presente trabajo tiene como objetivo comparar el desempeño de los dos medios de cultivo diferenciales, Chromagar y CLDE, en el aislamiento de bacterias a partir de urocultivos de pacientes internados en el Hospital de Emergencias Clemente Álvarez (HECA) de Rosario. Se trabajó con distintos grupos de pacientes: personas en estado crítico (terapia intensiva, unidad coronaria y sala de quemados), pacientes de la guardia externa y de las salas de cuidados bajos y altos. Se evaluaron las ventajas y desventajas de ambos medios en cuanto a recuperación de microorganismos, facilidad de lectura e interpretación, y su posible implementación rutinaria en el laboratorio hospitalario.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Urocultivo: definición y utilidad

El urocultivo es un método microbiológico esencial para detectar e identificar microorganismos bacterianos o fúngicos a partir de una muestra de orina recogida según condiciones estandarizadas. Se realiza sembrando parte de la muestra en medios de cultivo apropiados, permitiendo que cualquier microorganismo viable que esté presente, crezca y se multiplique. Esto facilita la identificación del tipo

específico de agente infeccioso causantes de infecciones del tracto urinario (ITU), así como su cantidad. Además de diagnosticar ITU y diferenciarlas de otras condiciones con síntomas similares, el urocultivo permite realizar estudios de sensibilidad antimicrobiana, orientando así al tratamiento más eficaz.

En condiciones normales, la orina es un fluido estéril. Sin embargo, factores como el uso de sondas vesicales, el embarazo, la menopausia, la inmunosupresión, anomalías en el tracto urinario, el vaciamiento incompleto de la vejiga o las internaciones prolongadas, aumentan el riesgo de colonización e infección.

2.2. Factores predisponentes de ITU:

- **Sexo:** mujeres de 20 a 40 años, al menos 1 Infección urinaria.
- **Según la edad:**
 - *entre 15 y 50 años:* antecedentes de ITU en infancia, fenotipo no secretor que genéticamente determina que la mucosa sea más susceptible a la adherencia de enterobacterias, cito, uso de diafragma, antibioticoterapia previa.
 - *entre 50 y 70 años:* depleción estrogénica, cirugía urogenital, incontinencia urinaria, cistocele, residuo post miccional, estatus no secretor, ITU previa.
 - *mayores a 70 años:* incontinencia urinaria, sonda permanente, cirugía urogenital, deterioro del estado mental.
- **Condiciones fisiológicas y anatómicas del tracto urinario:** anomalías estructurales en el tracto urinario (como agrandamiento de la próstata en hombres), reflujo vesicoureteral, embarazo o vejiga neurógena.
- **Comorbilidades:** enfermedades crónicas (como diabetes), inmunosupresión y uso de ciertos medicamentos.
- **Procedimientos médicos:** instrumentación del tracto urinario y procedimientos invasivos (cateterismo o sonda vesical).
- **Estilo de vida:** actividad sexual, higiene inadecuada, falta de hidratación o uso de ciertos productos (diafragmas o espermicidas que puede alterar la flora vaginal).

Las ITU asociadas a sondas vesicales son un problema común en pacientes hospitalizados. La sonda vesical es un tubo flexible de látex o silicona que se introduce en la vejiga a través de la uretra o mediante una pequeña incisión en el abdomen. Si bien, su propósito es drenar la orina cuando el paciente no puede hacerlo voluntariamente, también se utiliza para medir la diuresis, realizar lavados vesicales y administrar medicamentos directamente a la vejiga. La colonización

bacteriana de la sonda se considera prácticamente inevitable después de cierto tiempo, a partir de los 3 a 5 días de permanencia ya se considera colonizada, lo cual no necesariamente implica una ITU sintomática. Casi el 100% de los pacientes con sondas permanentes presentan bacteriuria al cabo de 30 días. Algunos microorganismos pueden formar biopelículas (*biofilm*) en la superficie de la sonda, colonizando el material sin estar presentes en la orina en concentraciones detectables o sin producir una infección clínica.

2.3. Principales microorganismos uropatógenos

Las bacterias más frecuentemente aisladas en urocultivos son: *Escherichia coli* (principal agente etiológico), *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* (especialmente en pacientes con sondas) y *Staphylococcus saprophyticus*.

En unidades de cuidados críticos, la presencia de microorganismos multirresistentes, como Enterobacterias productoras de BLEE (beta-lactamasas de espectro extendido) o carbapenemasas, adquieren gran relevancia epidemiológica.

2.4. Medios diferenciales para urocultivo

- **Chromagar (nombre comercial: Chromobrit IU Orientación Agar):** es un medio cromogénico diferencial diseñado para el estudio microbiológico de muestras urinarias. Su formulación permite el aislamiento, recuento de colonias, identificación presuntiva y detección simultánea de cultivos mixtos en orinas, optimizando de este modo el diagnóstico de las infecciones urinarias.

La incorporación de sustratos cromogénicos en el medio de cultivo constituye su principal ventaja diferencial, estos actúan como sustratos específicos para enzimas bacterianas características de ciertos grupos taxonómicos. Al ser metabolizados, liberan compuestos coloreados que tiñen la colonia bacteriana o el propio medio, generando así un patrón de coloración distintivo para cada microorganismo. Esto permite una identificación presuntiva directa de los uropatógenos sin necesidad de realizar pruebas bioquímicas complementarias en la mayoría de los casos, salvo algunas confirmaciones puntuales.

La versión comercial está formulada con un medio basal que contiene extracto de levadura y peptona (nutrientes esenciales para el crecimiento bacteriano), complementado con agar y la mezcla cromogénica que posibilita la diferenciación simultánea de múltiples actividades enzimáticas. Su pH final es de 7,0±0,2,

adecuado para el desarrollo de los microorganismos más frecuentemente implicados en infecciones urinarias. Este medio permite, por ejemplo, distinguir:

- *Escherichia coli*: colonias de color rosado oscuro a rojizo, gracias a la actividad de β -glucuronidasa sobre el sustrato cromogénico.
- Enterobacterias del grupo KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*): colonias azul metálico, con o sin halo rojizo.
- *Enterococcus spp.*: colonias azul turquesa, por acción de enzimas específicas presentes en este género.
- *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*: colonias con halo marrón o ámbar, asociadas a actividad triptófano desaminasa.
- *Pseudomonas aeruginosa*: colonias translúcidas con pigmentación variable, de crema a verde.
- *Staphylococcus aureus*: colonias blanco-amarillentas opacas.
- *Streptococcus agalactiae*: colonias puntiformes azul-verdosas a azul claro.

De este modo, Chromagar brinda la posibilidad de detectar cultivos mixtos y facilita la identificación presuntiva de los principales uropatógenos, disminuyendo tiempos y costos vinculados al diagnóstico microbiológico convencional. Sin embargo, para el diagnóstico final, es necesario realizar pruebas complementarias confirmatorias. Su utilización resulta valiosa en entornos de alta complejidad, como unidades de cuidados intensivos, donde es crucial un diagnóstico rápido y fiable que permita instaurar el tratamiento adecuado en forma oportuna y frenar la propagación de cepas multirresistentes.

- **CLDE (Cystine Lactose Electrolyte Deficient Agar)**: es un medio diferencial ampliamente utilizado en bacteriología clínica para el procesamiento de urocultivos. Está especialmente formulado para permitir el aislamiento, el recuento e identificación presuntiva de los principales patógenos urinarios, con la ventaja de inhibir el desarrollo invasor de *Proteus spp.*, microorganismo que, por su motilidad característica (*swarming*), podría interferir en el recuento de colonias.

Este medio es deficiente en electrolitos lo cual limita el movimiento de las especies de *Proteus*, facilitando la obtención de colonias aisladas. Su composición incluye peptona, extracto de carne y tripteína como fuentes de

nutrientes esenciales, lactosa como carbohidrato fermentable, L-cistina como agente reductor, agar y azul de bromotimol como indicador de pH.

El principio diferencial del CLDE se basa en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa:

- Los microorganismos fermentadores de lactosa producen ácidos que provocan un viraje del indicador de pH de verde a amarillo, con colonias amarillas.
- Las bacterias no fermentadoras de lactosa no generan acidificación, por lo que las colonias permanecen incoloras y el medio adquiere tonalidades azuladas.

Permite diferenciar rápidamente entre bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, información útil para orientar la identificación presuntiva del agente causal.

El pH final del medio es de $7,3 \pm 0,2$, con coloración verde característica. La incubación se realiza en aerobiosis, a temperaturas de 35 a 37 °C durante 18 a 48 horas, tras la siembra directa de la muestra con ansa calibrada para permitir el cálculo de UFC/ml.

Entre sus principales ventajas destacan la capacidad de inhibir el swarming de *Proteus spp.*, su bajo costo y la facilidad de lectura de colonias. Sin embargo, su capacidad diferencial es limitada en comparación con medios cromogénicos como el Chromagar, ya que no permite una identificación presuntiva específica más allá de diferenciar fermentadores y no fermentadores de lactosa, requiriendo en todos los casos la utilización de más insumos para alcanzar un resultado confiable.

En el contexto hospitalario, el CLDE sigue siendo una herramienta de uso extendido por su robustez, sencillez y eficacia para la rutina de urocultivos, contribuyendo al diagnóstico microbiológico oportuno de las infecciones urinarias.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio: Se realizó un estudio observacional, descriptivo y comparativo, orientado a evaluar el desempeño de dos medios de cultivo diferenciales, Chromagar y CLDE, en el aislamiento de microorganismos a partir de urocultivos de pacientes internados en diferentes sectores del hospital.

3.2. Población y muestra: Se analizaron un total de 58 pacientes provenientes de terapia intensiva, unidad coronaria, sala de quemados, sala y guardia externa.

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes adultos (>18 años).
 - Personas atendidas en el HECA durante el período de la práctica.
 - A los que se les indicó urocultivo por sospecha de infección urinaria o por recambio de sonda vesical.
- Criterios de exclusión:
 - Muestras con volumen insuficiente.
 - Muestras contaminadas o mal conservadas.
 - Pacientes pediátricos.

3.3. Recolección de muestras: Se obtuvieron muestras de orina mediante técnica de micción espontánea o punción de sonda vesical, según indicación médica y características del paciente. Las muestras fueron procesadas dentro de las 2 horas posteriores a la recolección, o conservadas a 4°C por no más de 6 horas si hubo demora en el procesamiento.

3.4. Procedimiento: Se sembraron las muestras en forma paralela en placas de Chromagar y CLDE mediante técnica de los 3 toques con ansa calibrada de 0,01 ml para cuantificación de unidades formadoras de colonias (UFC/ml). Las placas se incubaron en aerobiosis, a una temperatura de 35–37 °C durante 24 a 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el recuento de colonias y la identificación presuntiva de los microorganismos según: morfología colonial, características cromogénicas (en el caso de Chromagar) y fermentación de lactosa e indicadores de pH (en el caso de CLDE). Para aislamientos polimicrobianos se registró el número de tipos de colonias identificados en cada medio, su color y morfología. En todos los casos se realizó la confirmación con MALDI TOF (muestras derivadas a CEMAR) y en algunos casos se realizaron pruebas bioquímicas complementarias.

3.5. Variables registradas:

- Resultado del urocultivo (positivo/negativo).
- Número de microorganismos aislados por paciente.
- Tipo de microorganismos presuntamente identificados.
- Coincidencia de resultados entre medios.
- Ventajas y desventajas observadas en cada medio (facilidad de lectura, diferenciación, etc.).

4. **RESULTADOS**

La Tabla 1 muestra los datos de la cohorte en estudio y los resultados obtenidos.

TABLA 1. Datos de la cohorte de 58 pacientes y resultados de los urocultivos.

ID	SEXO	EDAD (AÑOS)	Chromagar	CLDE	MALDI TOF			ENFERMEDAD DE BASE/ SOSPECHA
					M1	M2	M3	
6CR128040	F	22	-	-	-	-	-	SHOCK SÉPTICO
6CR217411	F	58	-	-	-	-	-	SME/RIS
6CR218624	F	51	-	-	-	-	-	ITU
6EM268535	F	44	-	-	-	-	-	ITU
6EM269043	F	18	-	-	-	-	-	s/d
6EM269043	F	18	-	-	-	-	-	s/d
6EM269045	F	25	-	-	-	-	-	CON AMS
6EM269071	F	45	-	-	-	-	-	CÓLICO RENAL
6EM269251	F	59	-	-	-	-	-	s/d
6EM269283	F	53	-	-	-	-	-	ITU
6EM269422	F	52	-	-	-	-	-	PACIENTE EN SHOCK
6PI138715	F	50	-	-	-	-	-	s/d
6PI139073	F	53	-	-	-	-	-	RECAMBIO DE Sonda/ATC ITU
6CR217503	M	53	-	-	-	-	-	SME/RIS
6CR217669	M	45	-	-	-	-	-	FLEMOG PERIAMIGDALINO
6CR217722	M	57	-	-	-	-	-	EPOC
6CR218629	M	21	-	-	-	-	-	ITU
6CR218729	M	60	-	-	-	-	-	NIH/NUI CARDIOPATÍA DILATADA
6EM268044	M	49	-	-	-	-	-	s/d
6EM268051	M	56	-	-	-	-	-	POP VEJIGA
6EM268052	M	61	-	-	-	-	-	HPB/ITU
6EM268639	M	34	-	-	-	-	-	ITU
6EM268665	M	s/d	-	-	-	-	-	s/d
6EM268700	M	s/d	-	-	-	-	-	s/d
6EM269110	M	28	-	-	-	-	-	CATETERISMO/ITU/LITIASIS URETRAL
6EM269195	M	47	-	-	-	-	-	CIRROSIS
6EM269419	M	65	-	-	-	-	-	RECAMBIO DE Sonda VESICAL
6PI138716	M	22	-	-	-	-	-	TRAUMA MÚLTIPLE/ SIRS
6PI138746	M	25	-	-	-	-	-	SME FEBRIL IH
6PI138884	M	47	-	-	-	-	-	MICCIÓN ESPONTÁNEA
6PI138959	M	43	-	-	-	-	-	SME FEBRIL FOCO URINARIO
6PI139065	M	55	-	-	-	-	-	s/d
6EM268435	F	63	CBa	CBI	<i>C. albicans</i>	-	-	RECAMBIO DE Sonda VESICAL
6EM269094	F	55	CBa	CBI	<i>C. albicans</i>	-	-	ITU/ RECAMBIO DE Sonda
6PI138743	M	30	CBa	CBI	<i>C. glabrata</i>	-	-	SME FEBRIL/ HIPE + NAC A SAMS
6EM268623	F	24	CRo	CAm LAC+	<i>E. coli</i>	-	-	PIELONEFRITIS AGUDA
6EM269044	F	23	CRo	CAm LAC+	<i>E. Coli</i>	-	-	s/d
6EM269070	F	23	CRo	CAm LAC+	<i>E. Coli</i>	-	-	CÓLICO RENAL
6EM269198	F	32	CRo	CAm LAC+	<i>E. coli</i>	-	-	ITU
6EM269412	F	43	CRo	CAm LAC+	<i>E. coli</i>	-	-	PIELONEFRITIS
6PI138883	F	64	CRo	CAm LAC+	<i>E. coli</i>	-	-	RECAMBIO Sonda VESICAL/ SME FEBRIL
6EM268542	F	53	CRo/CAz	CAm LAC+	<i>E. coli</i>	-	-	PIELONEFRITIS
6PI139000	M	55	CAz	CAm LAC+	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	s/d
6CR217878	F	56	CAz	CCe LAC +	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	DBT, HTA, CON CIPRO
6CR218391	M	64	CAz	CCe LAC +	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	PUNCIÓN Sonda VESICAL
EM268701	M	55	CAz	CCe LAC +	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	ITU
6PI138742	M	43	CAz	CAm LAC+	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	OSTEOMIELITIS CRÓNICA/PIELONEFRITIS
6EM268543	F	29	CAz	CAm LAC+	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	ITU
6CR218746	F	62	CAm/CTr	CTr LAC-	<i>P. mirabilis</i>	-	-	NAC

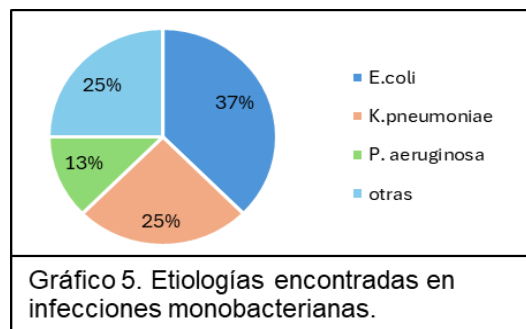
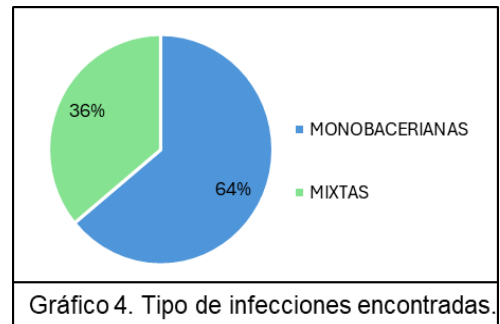
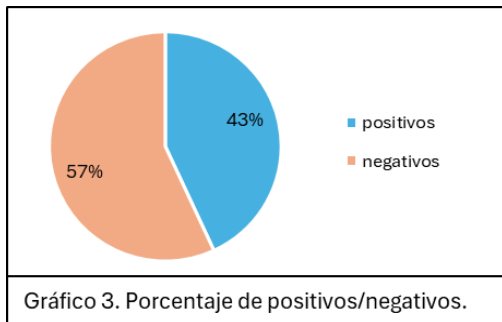
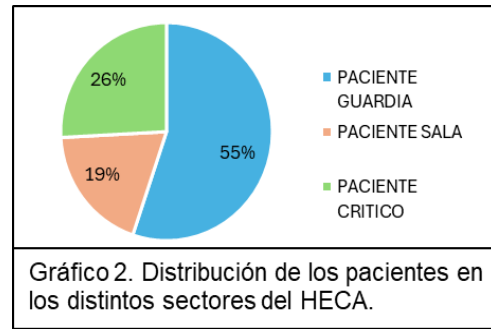
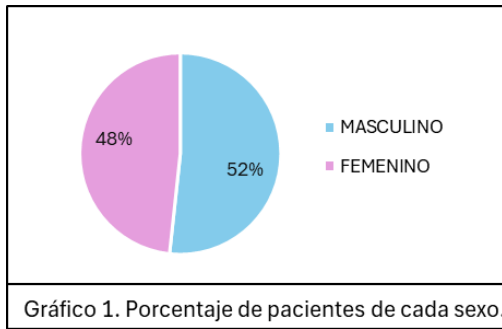
6CR218738	F	19	CAm/CTr	CTr LAC-	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	s/d
6EM268701	M	37	CVe	CCe LAC -	<i>P. aeruginosa</i>	-	-	ITU
6EM268423	M	35	CRo/CAz	CBI/CTr LAC-	<i>M. morganii</i>	<i>E. faecalis</i>	-	ELITISTA/ COLANGITIS
6EM268491	M	46	CRo/CAz	CBI/CTr LAC-	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	-	RECAMBIO DE SONDA VESICAL
6CR218054	M	53	CRo/Caz	CAm LAC+	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. mirabilis</i>	NIH/ EPILEPSIA
6CR217560	F	50	CVe/CRo/CTr	Cam/CCe LAC+	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. mirabilis</i>	RECAMBIO DE SONDA VESICAL
6CR218332	M	59	CVe/CRo/CTr	Cam/CCe LAC+	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. mirabilis</i>	PUNCIÓN SONDA VESICAL
6EM268871	F	70	CVe/CRo/CTr	CAm LAC+	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Providencia spp</i>	ITU/DIABETES/HTA
6EM268007	M	25	CVe/CRo/CTr	CTr LAC+	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Providencia spp</i>	SONDA VESICAL

SME/RIS: Síndrome de Respuesta Inflamatoria sistémica.
CAz: colonias azules. CBa: colonias blancas. CRo: colonias rosas. CAm: colonias amarillas. CTr: colonias transparentes. CVe: colonias verdes. CBI: colonias blancas. CCe: colonias celestes. s/d: sin datos.

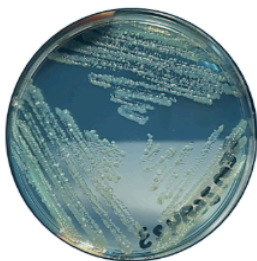
De los 58 pacientes ingresados en el estudio, el 52% (30/58) eran masculinos (edad: 45 años [21 - 65 años]) y el 48% (28/58) fueron mujeres (edad: 43 años [17 - 80 años]) (Gráfico 1). El 26% de los casos (15/58) son considerados pacientes críticos ya que estaban internados en terapia intensiva, unidad coronaria, sala de quemados, siendo considerados altamente probables de sufrir ITU (Gráfico 2).

En el 57% de las muestras procesadas (33/58) no se obtuvo desarrollo de colonia cuando se utilizaron ambos medios de cultivo, mientras que en el 43% restante (25/58) se observó crecimiento microbiano en ambos (Gráfico 3).

De las muestras positivas, se evidenció infecciones monobacterianas en el 64% (16/25) siendo los agentes más frecuentemente aislados *Escherichia coli* (6/16 casos) y *Klebsiella pneumoniae* (4/16 casos). Los restantes 34,6% (9/25) fueron infecciones mixtas (Gráficos 4 y 5), lo que resalta la importancia de utilizar medios que permitan una correcta diferenciación de colonias para optimizar el diagnóstico y tratamiento. En uno de los pacientes no se pudo identificar por MALDI TOF el o los agentes bacterianos causantes del crecimiento en los medios de cultivo.



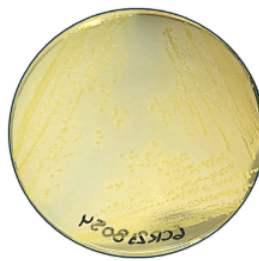
Ejemplos de placas con infecciones multibacterianas:



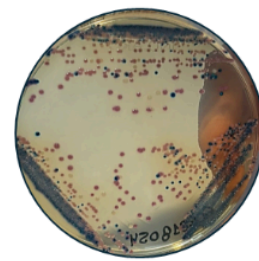
Placa de CLDE positivo para: *Morganella morganis* y *E. faecalis*.



Placa de CPS positivo para: *Morganella morganis* y *E. faecalis*.



Placa de CLDE positivo para: *Proteus mirabilis*, *E. faecalis* y *E. coli*.



Placa de CPS positivo para: *Proteus mirabilis*, *E. faecalis* y *E. coli*.

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

En este estudio se evaluó el desempeño de los medios de cultivo Chromagar y CLDE en urocultivos de pacientes del HECA. Ambos medios permitieron recuperar los principales uropatógenos, aunque se observaron diferencias importantes en su rendimiento. Chromagar demostró una mayor capacidad para diferenciar especies en cultivos mixtos gracias a su coloración cromogénica, lo que favorece una identificación presuntiva más precisa y rápida, especialmente en muestras con múltiples colonias. Por otro lado, CLDE sigue siendo una herramienta útil y accesible en la rutina de laboratorio, destacándose por inhibir el crecimiento de *Proteus spp.* y por su bajo costo, aunque su poder de discriminación en cultivos mixtos es más limitado. En ambos casos, la identificación definitiva debe completarse hoy en día con tecnologías como MALDI TOF.

Los hallazgos coinciden con la literatura, que respalda el uso de medios cromogénicos para optimizar la identificación de uropatógenos, especialmente en entornos con alta prevalencia de infecciones por cepas multirresistentes. En conclusión, ambos medios son útiles en el diagnóstico de infecciones urinarias, pero presentan ventajas y limitaciones que deben considerarse según el contexto clínico y los recursos del laboratorio.

6. PERSPECTIVAS

Se necesitaría seguir evaluando el desempeño de distintos medios de cultivo en contextos hospitalarios, especialmente ante el aumento de infecciones urinarias causadas por patógenos multirresistentes. Se debería ampliar el estudio a un mayor número de muestras y sectores del hospital, incorporando también pacientes ambulatorios, lo cual permitiría obtener una visión más representativa de la población general. Además, se podrían comparar otros medios cromogénicos disponibles en el mercado, así como explorar la utilidad de medios selectivos específicos según el perfil epidemiológico local. Sería beneficioso integrar un enfoque interdisciplinario que involucre a profesionales de microbiología, infectología y epidemiología, para optimizar tanto el diagnóstico como la elección empírica de tratamientos antimicrobianos. Por último, se destaca la importancia de incorporar tecnologías como MALDI TOF en etapas tempranas del proceso diagnóstico y fomentar estudios que analicen no solo la eficiencia microbiológica de los medios, sino también su impacto en los tiempos de respuesta, costos y resultados clínicos, promoviendo una microbiología más eficiente y orientada al paciente.

BIBLIOGRAFÍA

- Britania Laboratorios. (s.f.). *Medios de cultivo cromogénicos*.
<https://www.britanialab.com>
- Farinati, A. E. (2013). Volumen 3 - Urocultivo. Britania Lab.
https://www.britanialab.com/capacitacion/capacitacion/7/volumen_3_urocultivo
- Diapositivas de infección urinaria de la cátedra de bacteriología de la facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.
- CHROMagar. (s.f.). *CHROMagar Orientation*.
<https://www.chromagar.com/es/product/chromagar-orientation/>
- MDM Científica. (s.f.). *Medios de cultivo cromogénicos*.
<https://mdmcientifica.com/medios-cultivo-cromogenicos/>
- Yarbrough, M. L., Wallace, M. A., Marshall, C., Mathias, E., & Burnham, C. D. (2016). El cultivo de muestras de orina mediante el uso del medio chromID CPS Elite puede acelerar la identificación de *Escherichia coli* y reducir el tiempo de intervención en el laboratorio clínico. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(11), 2767–2773. *Journal of Clinical Microbiology*: <https://doi.org/10.1128/JCM.01376-16>
- Prats, G., Mirelis, B., & Giménez, M. (2001). Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. *Revista chilena de infectología*, 18(1), 57-63. *Revista chilena de infectología*:
https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000100008
- Del Castillo, M. M. G., de la Pedrosa, E. G., & Martínez, M. J. P. (2017). Infección urinaria: actualización en el diagnóstico y tratamiento. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(2), 120-127. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0213005X16304037>
- Cremona, A., De Cristóforo, A., Balasini, C., Domínguez, C., Pereyra, C., Serra, E., ... & Farina, J. (2019). Actualización de la infección intrahospitalaria del tracto urinario.
- Espinosa Rivera, F., Halley Posada, M. del C., Pardo Núñez, A., Martínez Valdés, A., & Hart Casares, M. (2007). Aislamiento e identificación de cepas bacterianas del tracto urinario en pacientes de cuidados intensivos. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*, 6(1).
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/midias/cum-35550>



ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS MEDIOS DIFERENCIALES CLDE Y CHROMAGAR PARA UROCULTIVOS EN UNA COHORTE DE PACIENTES INTERNADOS EN EL HECA

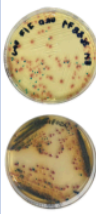


Albrecht, Paulina¹; Ratti, Eliana¹; Esterlizi, Richard²; Valdes, María de los Ángeles²; Perez Germán¹.

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Hospital de Emergencias Clemente Álvarez, Municipalidad de Rosario.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) son una causa frecuente de consulta e internación, **especialmente en pacientes críticos con dispositivos invasivos**. El **urocultivo** es el método de referencia para su diagnóstico y la elección del medio de cultivo es clave para una identificación rápida y precisa.

 CHROMagar (medio cromogénico) : Medio diferencial cromogénico para urocultivos. Contiene sustratos cromogénicos que reaccionan con enzimas específicas de distintos uropatógenos, generando colores característicos de cada grupo bacteriano. - Permite identificación presuntiva rápida y directa. - Excelente detección de cultivos mixtos, diferenciando claramente colonias distintas. - Es ideal para laboratorios hospitalarios, muestras críticas, alta sospecha de patógenos multirresistentes.	 CLDE (Cystine Lactose Electrolyte Deficient Agar) : Medio diferencial cromogénico para urocultivos. Diferencia, mediante azul de bromotimol, los fermentadores de lactosa (colonias amarillas) de no fermentadores (colonias incoloras/ azuladas). Deficiencia en electrolitos que inhibe el swarming de <i>Proteus</i> permitiendo el aislamiento de colonias.
---	---

OBJETIVO

comparar el desempeño de los medios de cultivo diferenciales Chromagar y CLDE en el aislamiento de bacterias a partir de urocultivos de pacientes internados en el Hospital de Emergencias Clemente Álvarez (HECA) de Rosario.

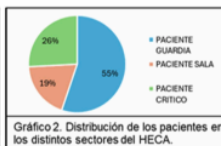
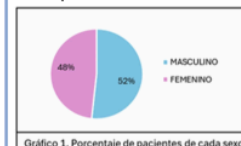
MATERIALES Y MÉTODOS

- **DISEÑO:** estudio observacional, descriptivo y comparativo.
- **MUESTRA:** 58 pacientes adultos (>18 años) de terapia intensiva, guardia, sala de quemados, unidad coronaria y salas generales.
- **PROCEDIMIENTO:** Siembra paralela en ChromAgar y CLDE usando la técnica de "los tres toques". Incubación 24–48 h a 35–37 °C. Evaluación de color/morfología, recuento y detección de cultivos mixtos. Confirmación mediante **MALDI-TOF**.
- **VARIABLES:** urocultivo positivo/negativo, microorganismos aislados, coincidencia entre medios, ventajas observadas.
- **EVALUACIÓN:** ventajas y desventajas de ambos medios en cuanto a recuperación de microorganismos, facilidad de lectura e interpretación, y su posible implementación rutinaria en el laboratorio hospitalario.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE LA COHORTE.

- 58 pacientes: **52% hombres, 48% mujeres**, mediana 45 y 43 años.
- **26% pacientes críticos.**



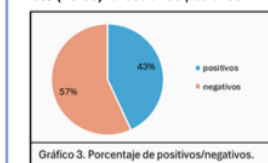
MICROORGANISMOS MÁS FRECUENTES.

- *Escherichia coli*: 6/16
- *Klebsiella pneumoniae*: 4/16
- Otros:
 - Proteus mirabilis*
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Enterococcus faecalis*
 - Candida spp.*



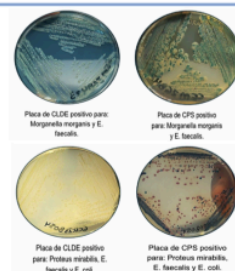
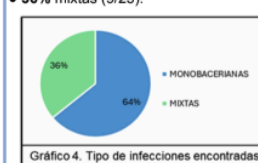
RESULTADOS DE LOS UROCULTIVOS.

- **57% (33/58):** sin desarrollo.
- **43% (25/58):** urocultivos positivos.



TIPO DE INFECCIÓN.

- **64% monobacterianas (16/25).**
- **36% mixtas (9/25).**



✓ Si bien **ambos medios permitieron recuperar los principales uropatógenos**, la identificación definitiva debe completarse actualmente con tecnologías como MALDI TOF.

✓ Se observaron **diferencias importantes en su rendimiento**:

- **Chromagar:** mayor capacidad para diferenciar especies en cultivos mixtos y favorece una identificación presuntiva más precisa y rápida.
- **CLDE:** inhibe el crecimiento de *Proteus spp.*, aunque su poder de discriminación en cultivos mixtos es más limitado.

✓ Los hallazgos respalda el uso de medios cromogénicos para optimizar la identificación de uropatógenos, especialmente en entornos con alta prevalencia de infecciones por cepas multirresistentes.

CONCLUSIÓN

Ambos medios son útiles en el diagnóstico de infecciones urinarias, pero presentan ventajas y limitaciones que deben considerarse según el contexto clínico y los recursos del laboratorio.

PERSPECTIVA

- ✓ Continuar la evaluación del desempeño de distintos medios de cultivo en contextos hospitalarios, especialmente ante el aumento de infecciones urinarias causadas por patógenos multirresistentes.
- ✓ Ampliar el estudio a un mayor número de muestras y sectores del hospital, incorporando a pacientes ambulatorios, lo cual permitiría obtener una visión más representativa de la población general.
- ✓ Comparar otros medios cromogénicos disponibles en el mercado.
- ✓ Explorar la utilidad de medios selectivos específicos según el perfil epidemiológico local.
- ✓ Integrar un enfoque interdisciplinario para optimizar tanto el diagnóstico como la elección empírica de tratamientos antimicrobianos.

Lodderomyces elongisporus: Transmisión intrahospitalaria y dificultad diagnóstica.

Autor: Enecoiz, María Catalina

Tutor: Dalmaso, Hernán

Área: Micología – Hospital Centenario

Práctica Profesional Obligatoria

Año 2025

Marco teórico

La **fungemia** se define como la presencia de hongos en el torrente sanguíneo, y representa una forma grave de infección fúngica sistémica. El diagnóstico microbiológico se realiza a partir de hemocultivos, ya sea mediante sistemas automatizados o por métodos manuales, siendo una herramienta esencial para la identificación del agente etiológico.

Lodderomyces elongisporus es una levadura perteneciente a la familia **Debaryomycetaceae**, filogenéticamente cercana al complejo *Candida parapsilosis*. Durante mucho tiempo fue considerado un organismo ambiental sin relevancia clínica; sin embargo, en los últimos años ha emergido como un patógeno oportunista en humanos, especialmente en el contexto hospitalario.

Como otras levaduras oportunistas, *L. elongisporus* no suele causar enfermedad en individuos inmunocompetentes, pero puede provocar infecciones invasivas en pacientes con alteraciones en las barreras naturales o en la respuesta inmune. Los principales factores predisponentes incluyen:

- Inmunosupresión (por VIH, quimioterapia o trasplantes).
- Uso prolongado de antibióticos de amplio espectro o antifúngicos azólicos.
- Neutropenia o enfermedades hematológicas malignas.
- Diabetes mellitus no controlada.
- Hospitalización prolongada.
- Procedimientos invasivos, como cirugías o colocación de catéteres venosos centrales.

Una característica relevante de *L. elongisporus* es su capacidad para sobrevivir en entornos hospitalarios. La formación de biopelículas y ascosporas parece contribuir significativamente a su persistencia en superficies inanimadas del ambiente clínico. Estas estructuras le confieren una mayor resistencia frente a variaciones de pH y temperatura.

Candida parapsilosis es una de las principales causas de candidemia a nivel mundial. Su estrecha relación genética y fenotípica con *L. elongisporus* ha llevado a múltiples casos

de identificación errónea. En la mesada del laboratorio, se presentan ciertas discrepancias diagnósticas que serán abordadas en el siguiente trabajo.

Diagnóstico de laboratorio de *L. elongisporus*

1. Examen microscópico y cultivo:

- *Muestras: sangre (hemocultivos)*, biopsias o líquidos estériles (LCR, líquido peritoneal, etc.).
- *Cultivo en agar Sabouraud*: crece como levadura, pero no tiene características macroscópicas distintivas.
- *CHROMagar Candida*: puede presentar una coloración verde similar a *C. albicans*, lo que dificulta su diferenciación. *C. parasilopsis* presenta coloración rosada (Figura 1).

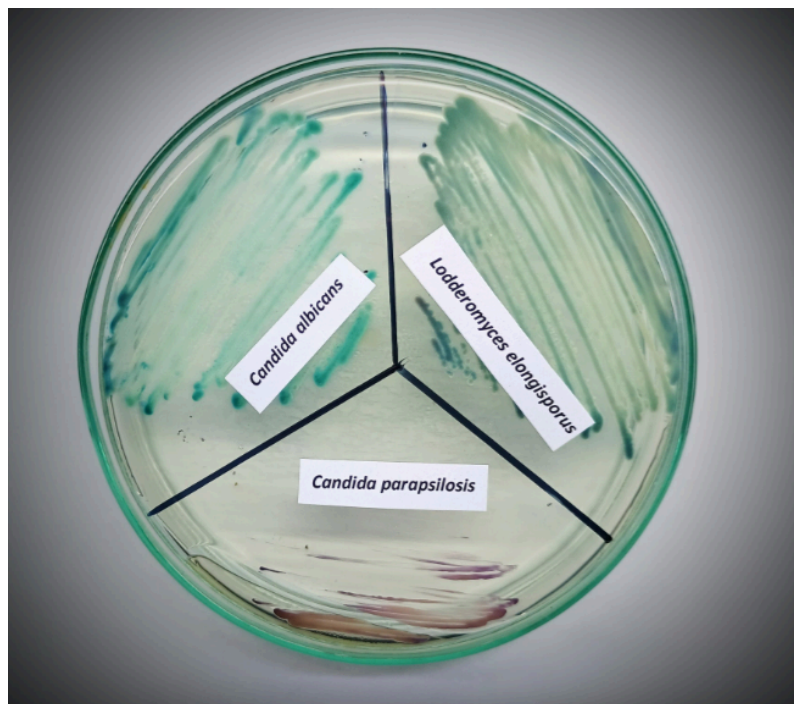


Figura 1

- *AL y AHM*: favorecen la formación de estructuras microscópicas, especialmente la formación de pseudohifas, hifas, y clamidoconidias debido a la restricción de oxígeno y nutrientes. En este medio, *L. elongisporus* tiene morfología similar e indistinguible a la de *C. parasilopsis* (Figuras 2 y 3).

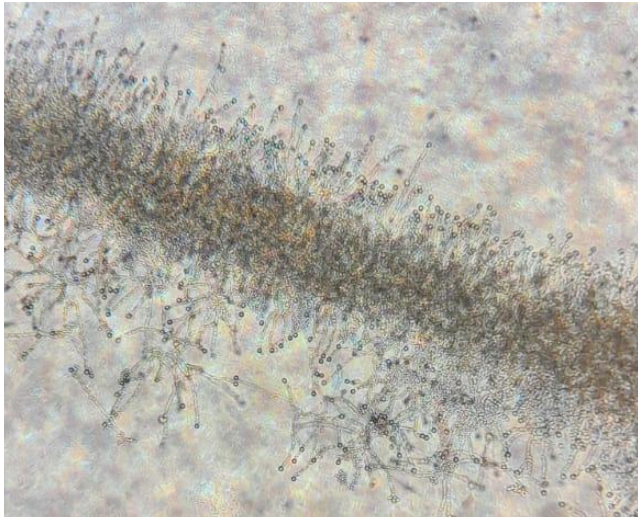


Figura 2. *Candida albicans*.

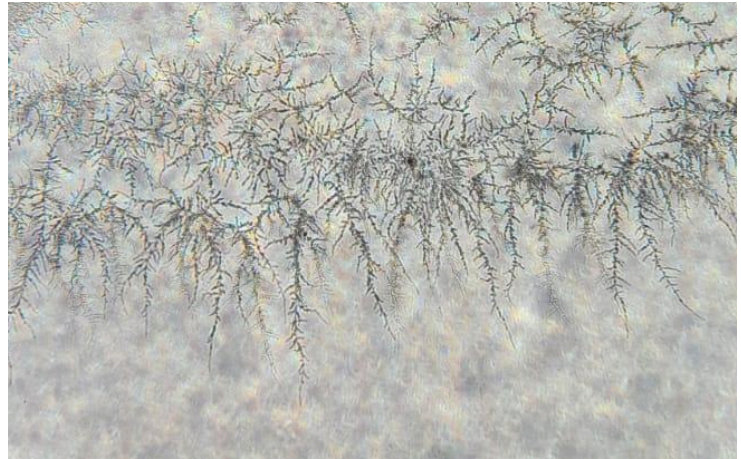


Figura 3. *C. parasilopsis* y *L. elongisporus*

2. Métodos bioquímicos:

- **VITEK:** es un método automatizado utilizado en microbiología clínica para la identificación de bacterias y levaduras, y para la determinación de susceptibilidad antimicrobiana. La identificación se realiza a partir de pruebas metabólicas, como el consumo de determinados azúcares y compuestos nitrogenados. Por medio del mismo, *L. elongisporus* es identificado de forma errónea como *C. parapsilopsis*.

3. Diagnóstico molecular:

- **PCR y secuenciación del gen:** permiten identificar microorganismos a través del análisis de su material genético, con alta especificidad y sensibilidad. En el caso de levaduras, una de las más utilizadas es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que amplifica regiones específicas del ADN ribosomal, como los genes ITS (espaciadores internos transcritos). Estos fragmentos luego pueden ser secuenciados y comparados con bases de datos genéticas, lo que permite distinguir especies muy cercanas entre sí, como *L. elongisporus* y *C. parapsilosis*.
- **Espectrometría de masas:** por desorción/ionización láser asistida por matriz con análisis de tiempo de vuelo (MALDI-TOF MS) es una técnica rápida y precisa que identifica microorganismos analizando su perfil proteico. Consiste en aplicar una pequeña cantidad de colonia microbiana en una placa, cubrirla con una matriz

química y exponerla a un láser. Esto genera un patrón de masas de proteínas (espectro) característico de cada especie, que es comparado con una base de datos. Si la base contiene entradas específicas para *L. elongisporus*, la técnica permite su correcta identificación en minutos.

4. **Pruebas de sensibilidad antifúngica:** como es un patógeno emergente no hay suficiente evidencia reunida para determinar puntos de cortes clínicos para los antifúngicos de uso como tanto por CLSI y Eucast.

Caso clínico

Durante febrero y marzo 2025, se aislaron cepas de *Lodderomyces elongisporus* en pacientes internados en el Hospital Centenario. Los casos analizados comparten un conjunto de factores predisponentes característicos de las infecciones fúngicas invasivas, entre ellos el uso de catéteres venosos centrales, la realización de procedimientos invasivos recientes, la hospitalización prolongada y estados de inmunosupresión, ya sea por enfermedades de base como lupus eritematoso sistémico (LES) o cáncer gástrico, o bien por tratamientos inmunosupresores.

En todos los pacientes, los hemocultivos resultaron positivos en el analizador automatizado del Centro de Referencia de Micología (CEREMIC) del Hospital Centenario, con una primera identificación presuntiva de *C. parapsilosis*. Se realizaron cultivos en CHROMagar Candida y en medios AHM/AL, además del examen microscópico correspondiente. En esta etapa, se observó una discordancia diagnóstica: las colonias en CHROMagar presentaban una tonalidad verdosa, más compatible con *C. albicans*, mientras que la morfología observada en medios AHM/AL correspondía a *C. parapsilosis*. Posteriormente, el sistema automatizado VITEK también identificó los aislamientos como *C. parapsilosis*, lo cual reforzaba el diagnóstico inicial. Sin embargo, ante la discrepancia fenotípica observada y en el marco de un posible brote institucional, se decidió derivar las cepas al Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR), donde se procesaron por espectrometría de masas (MALDI-TOF MS). Este resultado, junto con la revisión de la bibliografía correspondiente, permitió realizar la identificación de *Lodderomyces elongisporus* como agente etiológico en los tres casos.

CASO CLÍNICO 1

- **Edad y sexo:** 19 años, masculino.
- **Fechas de ingreso y egreso:** 21/02/2025 - 28/02/2025.
- **Motivo de consulta:** dolor abdominal.
- **Antecedentes personales:** intervención quirúrgica por fimosis en la infancia. Episodio reciente de síndrome coledociano con colocación de stent biliar en enero de 2025.
- **Evolución hospitalaria:** el paciente consultó por dolor abdominal de 72 horas de evolución, acompañado de náuseas, vómitos biliosos, fiebre e ictericia. Al ingreso se constató abdomen doloroso y signos clínico-laboratoriales compatibles con colecistitis aguda. Se indicó internación para tratamiento médico y estudio del árbol biliar, ya que la paciente tenía un stent biliar colocado recientemente. Durante la internación evolucionó de forma estable, con mejoría clínica y desaparición de la fiebre.
- **Factores predisponentes:** procedimiento invasivo reciente (colocación de stent biliar), hospitalización.

CASO CLÍNICO 2

- **Edad y sexo:** 69 años, masculino.
- **Fecha de ingreso a UTI:** 13/03/2025. Previamente, cursaba internación en sala desde el 26/02/2025 por falla renal aguda.
- **Motivo de ingreso:** shock séptico.
- **Antecedentes personales:** carcinoma gástrico diagnosticado en diciembre de 2024, con posterior gastrectomía subtotal con múltiples complicaciones posoperatorias (fístulas digestivas, sepsis, abscesos intraabdominales, trombosis) y nutrición parenteral total (NPT) prolongada. Infecciones previas por *Candida parapsilosis*, *Clostridium difficile*, *Staphylococcus hominis*. Múltiples esquemas antimicrobianos (fluconazol, vancomicina, piperacilina/tazobactam).
- **Evolución hospitalaria:** el paciente fue derivado a la UTI por cuadro de shock. Durante su internación allí, presentó nuevo episodio febril. Se extrajeron hemocultivos en serie, y se reinició tratamiento empírico antifúngico. Al décimo día de tratamiento con fluconazol, uno de los hemocultivos resultó positivo para *Lodderomyces*

elongisporus. Este hallazgo fue interpretado como una fungemia activa no resuelta o una reinfección, posiblemente asociada a biopelícula en el CVC.

- **Factores predisponentes:** inmunosupresión por enfermedad oncológica., internación prolongada, NPT y CVC, uso previo de antifúngicos (fluconazol) y antecedentes de infecciones fúngicas previas.

CASO CLÍNICO 3

- **Edad y sexo:** 28 años, femenino.
- **Fecha de ingreso:** 03/03/2025
- **Motivo de ingreso:** postoperatorio inmediato por peritonitis apendicular complicada.
- **Antecedentes personales:** paciente con LES, en tratamiento inmunosupresor crónico. Hemodiálisis crónica por compromiso renal secundario a LES. Fístula arteriovenosa funcionante. Litiasis vesicular. Ex tabaquista.
- **Evolución hospitalaria:** la paciente ingresó a terapia intensiva tras cirugía por peritonitis complicada. Evolucionó febril y con signos clínicos de infección persistente a pesar de antibióticos empíricos. Se extrajeron hemocultivos, que resultaron positivos para *Lodderomyces elongisporus* y se ajustó el tratamiento antimicrobiano tras la identificación del patógeno.
- **Factores predisponentes:** LES con inmunosupresión. Cirugía reciente. Drenajes abdominales. CVC. Internación en UTI y uso de antibióticos previos.

En respuesta a la identificación, el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas – ANLIS Carlos G. Malbrán, realizó un estudio molecular sobre las cepas aisladas del Hospital Centenario. Todos fueron confirmados como *L. elongisporus* mediante métodos convencionales: MALDI-TOF MS y secuenciación de regiones ITS y 26S del ADN ribosomal. El análisis filogenético de genomas completos reveló una alta relación clonal entre los aislados del brote, agrupándolos dentro de un mismo clado (**Figura 4**), lo que sugiere una misma cadena de transmisión o fuente común.

Las pruebas de sensibilidad antifúngica mostraron concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) bajas para todos los antifúngicos ensayados, aunque no fue posible establecer su clasificación como sensibles o resistentes por falta de puntos de corte clínicos específicos para la especie.

El informe recomienda al hospital evaluar medidas para interrumpir la transmisión, identificar posibles fuentes de infección y notificar el brote a las autoridades sanitarias correspondientes, subrayando la importancia de la vigilancia epidemiológica y el fortalecimiento de los protocolos de bioseguridad.

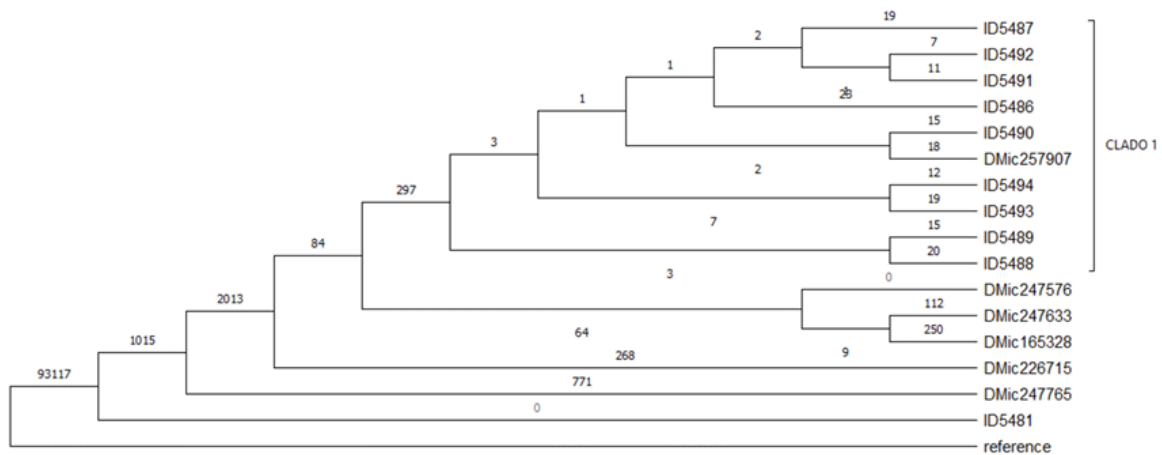


Figura 4. Árbol filogenético de los aislados incluidos en el estudio. Se basa en SNPs alineados contra el genoma de referencia. Arriba de cada rama se ve el número de SNPs de diferencias y al final de cada rama el número del aislado.

Discusión y conclusiones

La aparición de estos aislamientos en un mismo período y contexto hospitalario refuerza la hipótesis de una transmisión nosocomial, coherente con lo descrito en la literatura sobre la capacidad de *L. elongisporus* para formar biopelículas y persistir en ambientes clínicos, incluso en presencia de desinfectantes comúnmente utilizados. Estos hallazgos destacan la importancia de un enfoque diagnóstico riguroso y multidimensional, así como la necesidad de vigilancia epidemiológica activa frente a patógenos emergentes de identificación compleja.

Cabe destacar que, si bien no se identificó una fuente puntual de contaminación, la dinámica del brote sugiere que la transmisión por contacto tuvo un rol central, probablemente facilitada por deficiencias en las medidas de bioseguridad, como el uso inconsistente de guantes y la higiene inadecuada de manos por parte del personal. Este mecanismo es comparable al de *C. parapsilosis*, levadura con la que *L. elongisporus* comparte tanto afinidad fenotípica como su condición de posible integrante de la flora normal de la piel. Estos eventos subrayan la necesidad de fortalecer las prácticas de

control de infecciones, en especial aquellas relacionadas con el cuidado y manipulación de accesos vasculares y dispositivos invasivos, pilares fundamentales para prevenir la diseminación de levaduras oportunistas en el ámbito hospitalario.

Perspectivas

Los casos analizados reflejan con claridad las limitaciones diagnósticas que persisten frente a infecciones fúngicas emergentes como las causadas por *Lodderomyces elongisporus*. Uno de los desafíos principales es la dificultad para diferenciar esta levadura de otras especies del complejo *Candida parapsilosis*, tanto por métodos fenotípicos tradicionales como por medios cromogénicos. En particular, en CHROMagar Candida, *L. elongisporus* puede presentar una coloración verde que simula *Candida albicans*, hecho que entra en cuestionamiento al ver la morfología de la levadura en AHM o AL, donde simula *Candida parapsilosis*.

Esta discordancia evidencia la necesidad de disponer de técnicas avanzadas en los laboratorios de microbiología clínica, como la espectrometría de masas MALDI-TOF MS o la secuenciación del ADN ribosomal (regiones ITS), herramientas que permiten una identificación precisa a nivel de especie. Sin embargo, su implementación requiere inversión en equipamiento, capacitación del personal y actualización constante de las bases de datos utilizadas.

Desde una perspectiva institucional, estos casos resaltan la importancia de reforzar los protocolos de higiene y seguridad. La capacidad de *L. elongisporus* para formar biopelículas y producir esporas resistentes le confiere una notable persistencia en superficies hospitalarias. Además, se ha documentado su tolerancia a concentraciones elevadas de desinfectantes como el hipoclorito de sodio, uno de los compuestos más utilizados en el medio hospitalario. Esto obliga a revisar los productos y métodos de limpieza empleados, su rotación, concentración, y tiempo de contacto efectivo, así como también la correcta supervisión de su aplicación.

En conjunto, estos hallazgos impulsan a considerar no solo el perfeccionamiento del diagnóstico microbiológico, sino también el fortalecimiento de las medidas de prevención y control de infecciones intrahospitalarias, incluyendo la vigilancia activa de hongos

emergentes, el mantenimiento adecuado del ambiente hospitalario y la educación continua del personal de salud.

Bibliografía

- Yue Wang, Jianping Xu (2023). *Lodderomyces elongisporus*: An emerging human fungal pathogen. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10484426/>
- K. Al-Obaid, S. Ahmad, L. Joseph, Z. Khan (2018). *Lodderomyces elongisporus*: a bloodstream pathogen of greater clinical significance. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6141678/>
- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas – ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". (2025). *Informe técnico del brote por Lodderomyces elongisporus en el Hospital Centenario*. Departamento de Micología, Buenos Aires, Argentina.



Lodderomyces elongisporus: Transmisión intrahospitalaria y dificultad diagnóstica.

Enecoiz, María Catalina¹; Dalmaso, Hernán²

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ² CEREMIC – Centro de Referencia de Micología



INTRODUCCIÓN

La **fungemia** se define como la presencia de hongos en el torrente sanguíneo. El diagnóstico microbiológico se realiza a partir de **hemocultivos**, por sistemas automatizados o por métodos manuales. *Lodderomyces elongisporus* es una levadura perteneciente a la Familia *Debaryomycetaceae*, filogenéticamente cercana al complejo *Candida parapsilosis*. Posible integrante de la flora normal de la piel. En los últimos años, ha emergido como un **patógeno oportunista** en humanos, especialmente en el ámbito hospitalario. Tiene la capacidad de formar biofilms y ascoporas que contribuyen significativamente en la persistencia en superficies inanimadas del ambiente clínico. No suelen causar enfermedad en individuos inmunocompetentes, pero puede provocar infecciones invasivas en pacientes con alteraciones en las barreras naturales o en la respuesta inmune. Los principales **factores predisponentes** incluyen: **inmunosupresión, uso prolongado de ATB de amplio espectro o antifúngicos azólicos, neutropenia, hospitalización prolongada, procedimientos invasivos.**

CASOS CLÍNICOS

Durante febrero y marzo 2025, se aislaron cepas de *L. elongisporus* en pacientes internados en el **Hospital Centenario**. Los casos analizados comparten un conjunto de factores predisponentes característicos de las infecciones fúngicas invasivas. En todos ellos, **los hemocultivos resultaron positivos en el analizador automatizado del Centro de Referencia de Micología (CEREMIC) del Hospital Centenario**, con una primera identificación presuntiva de *C. parapsilosis*.

	Edad/Sexo	Historia clínica
Caso N° 1	19 años; Masculino	Antecedentes: episodio reciente de síndrome coledociano con colocación de stent biliar en enero 2025. El paciente consultó por dolor abdominal de 72 hs de evolución, acompañado de náuseas, vómitos biliosos, fiebre e ictericia. Se indicó internación para el tratamiento médico y estudio del árbol biliar. Factores predisponentes: procedimiento invasivo reciente y hospitalización.
Caso N° 2	69 años; Masculino	Antecedentes: carcinoma gástrico diagnosticado en diciembre de 2024, posterior gastrectomía y complicaciones operatorias. Recibió nutrición parenteral prolongada. Debido a numerosas infecciones, recibió múltiples tratamientos antimicrobianos. Ingresó a UTI por shock séptico, previamente cursaba internación en sala desde febrero 2025 por falla renal aguda. Factores predisponentes: inmunosupresión por enfermedad oncológica, internación prolongada, NPT y CVC, uso previo de antifúngicos y antecedentes de infecciones fúngicas previas.
Caso N° 3	28 años; Femenino	Antecedentes: paciente con LES, en tratamiento inmunosupresor crónico. Hemodiálisis crónica por compromiso renal secundario. Fístula arteriovenosa funcionante. Litiasis vesicular. Ex tabaquista. Ingresó a UTI tras cirugía por peritonitis complicada. Factores predisponentes: LES con inmunosupresión. Cirugía reciente. Drenajes abdominales. CVC. Internación en UTI y uso de ATB previos.

DIAGNÓSTICO

Al retirar los hemocultivos positivos del analizador automatizado, se le realizaron las siguientes pruebas:

- **Cultivo:**
 - ✓ Agar Sabouraud.
 - ✓ CHROMagar *Candida* → color verde → confusión con *C. albicans*. (Figura 1)
 - ✓ AHM/AL: se espera morfología similar a *C. albicans*, se observa morfología similar a *C. parapsilosis*. (Figuras 2 y 3)
- **Sistemas automatizados:**
 - ✓ **VITEK:** método automatizado utilizado para la identificación de bacterias y levaduras, y para la determinación de susceptibilidad antimicrobiana. Por medio del mismo, *L. elongisporus* es identificado de forma errónea como *C. parapsilosis*.
 - ✓ **MALDI-TOF:** ante la discrepancia fenotípica observada y en el marco de un posible brote institucional, se decidió derivar las cepas al Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR). Se procesaron las muestras por espectrometría de masas que identifica microorganismos analizando su perfil proteico. Identificó correctamente como *L. elongisporus*.
- **Pruebas de sensibilidad antifúngica:** patógeno emergente. No hay suficiente evidencia reunida para determinar puntos de cortes clínicos para los antifúngicos de uso, tanto por CLSI como por Eucast.

Figura 1: CHROMagar *Candida*

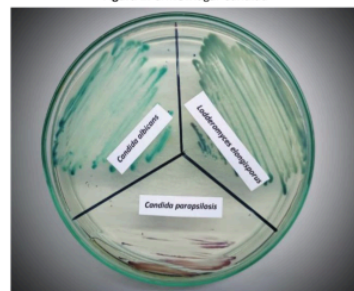


Figura 2: *Candida albicans* en AHM

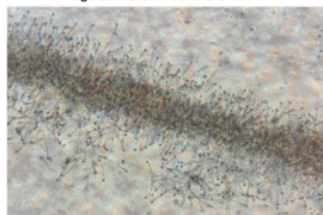
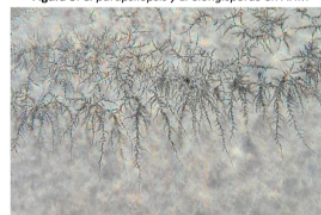
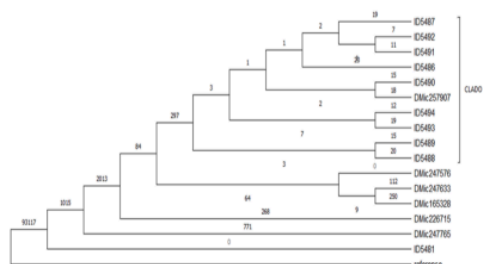


Figura 3: *C. parapsilosis* y *L. elongisporus* en AHM



En respuesta a la identificación, el **Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas – ANLIS Carlos G. Malbrán**, realizó un estudio molecular sobre las cepas aisladas.



CONCLUSIONES

- Los aislamientos sugieren **transmisión nosocomial**. Posible transmisión por contacto, favorecida por fallas de bioseguridad. Es necesario reforzar el control de infecciones, especialmente el manejo de catéteres y dispositivos invasivos.
- **Limitaciones diagnósticas.** Se requiere incorporar técnicas avanzadas para su identificación precisa. Sin embargo, esto requiere inversión en equipamiento, capacitación del personal y actualización constante de las bases de datos.

Estudio de vigilancia de portación de bacterias patógenas en salas críticas del Hospital Provincial del Centenario

Autor: Delfina Fedele

Tutor: Jorgelina Pérez

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

PRESENTACIÓN

La vigilancia epidemiológica en el entorno hospitalario es una gran herramienta para la prevención y control de infecciones nosocomiales. En el contexto de este trabajo, el estudio de portaciones bacterianas en hisopados anales permite detectar la presencia de bacterias resistentes a antibióticos críticos, como enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC), enterococos resistentes a Vancomicina (EVR), bacterias productoras de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) y otros microorganismos potencialmente patógenos que colonizan el tracto gastrointestinal, como *Stenotrophomona maltophilia*, *Pseudomona aeuroginosa* multirresistente y *Acinetobacter baumannii* multirresistente.

Conocer acerca de ellas nos permite identificar a pacientes colonizados que pueden actuar como reservorios silenciosos y diseminar estos microorganismos en áreas críticas del hospital, como lo son la Unidad de Terapia Intensiva (UTI), Unidad Coronaria (UCO), Unidad de Cuidados Intermedios (UCIN) y Neonatología, generando así un mayor riesgo de infección en estos pacientes, debido a su mayor susceptibilidad por su alto riesgo de comorbilidades. Por este motivo, el objetivo de este trabajo fue realizar estadísticas de EPC, EVR y BLEE en dichas salas del Hospital Provincial del Centenario a pedido del Comité de Infecciones del hospital.

MARCO TEÓRICO

Las bacterias han adquirido, por transferencia horizontal de genes, diversos mecanismos de resistencia a los antibióticos, dentro de los cuales podemos destacar la resistencia a carbapenemes, producción de β -lactamasas de espectro extendido y la resistencia a Vancomicina en enterococos. En términos generales, implican un problema a la hora de utilizar distintos antibióticos para el tratamiento de infecciones.

Es por esto la importancia que implica su detección para poder identificar aquellas infecciones que son resistentes a los tratamientos estándar, orientando la selección de antibióticos más efectivos y evitando la propagación de bacterias resistentes en ambientes hospitalarios.

CARBAPENEMASAS

Las carbapenemasas pertenecen a la familia más versátil de las β -lactamasas, destacándose por su amplio espectro de acción frente a antimicrobianos β -lactámicos, incluidos los carbapenémicos. Estas enzimas, al igual que otras β -lactamasas, se clasifican según sus características funcionales y moleculares en tres clases principales: A, B y D.

- **Clases A y D:** Son serina- β -lactamasas, ya que poseen un residuo de serina en su sitio activo.
- **Clase B:** Son metalo- β -lactamasas, con uno o dos iones zinc como cofactor enzimático.

Clase A

Estas son las más diversas y ampliamente distribuidas. Pueden hidrolizar carbapenémicos, cefalosporinas, penicilinas y aztreonam. Se han identificado principalmente en enterobacterias y bacilos gramnegativos no fermentadores. Entre las más relevantes se encuentran:

- **NMC** (*Not Metallo Enzyme Carbapenemase*)
- **IMI** (*Imipenem-hydrolyzing β -lactamase*)
- **SME** (*Serratia marcescens enzyme*)
- **GES** (*Guiana Extended Spectrum*)
- **KPC** (*Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*)

Clase B (Metallo- β -lactamasas)

Estas enzimas hidrolizan principalmente los carbapenémicos (excepto el aztreonam) y su acción puede ser inhibida por el agente quelante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). Han sido identificadas en diversas especies bacterianas como *Bacillus cereus*, *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* y enterobacterias. Las principales metaloenzimas son:

- **VIM** (*Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase*)
- **GIM** (*German Imipenemase*)
- **SIM** (*Seoullmipenemase*)
- **IMP** (*Imipenemase*)
- **NDM** (*New Delhi Metallo- β -lactamase*)

Clase D (Oxacilinasas)

Estas enzimas, además de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, tienen la capacidad específica de actuar sobre oxacilina y cloxacilina. Se han identificado principalmente en *Pseudomona aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* y enterobacterias. En bacilos gramnegativos, las cepas productoras de carbapenemasas se aíslan con mayor frecuencia de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Las enzimas más comúnmente encontradas son:

- **KPC**
- **NDM-1**
- **IMP**
- **VIM**
- **OXA-48**
- **OXA-163**

B-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

Las BLEE son enzimas capaces de conferir resistencia a una amplia gama de antibióticos β -lactámicos, incluyendo penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, y monobactámicos (exceptuando cefamicinas y carbapenémicos). Su mecanismo de acción consiste en hidrolizar el enlace amídico del anillo β -lactámico.

El aumento de la resistencia mediada por BLEE se ha relacionado con el uso indiscriminado de cefalosporinas, incluso en infecciones leves. Estas enzimas también suelen estar asociadas con genes que confieren resistencia a otros antimicrobianos, como aminoglucósidos, tetraciclinas y cotrimoxazol.

La resistencia generada por BLEE complica los tratamientos empíricos, lo que puede derivar en una evolución clínica desfavorable, como la aparición de sepsis. Estas enzimas se detectaron inicialmente en *Klebsiella pneumoniae* y, en menor medida, en otras *Enterobacteriaceae*.

ENTEROCOCOS VANCOMICINA RESISTENTES

Los enterococos presentan diversos mecanismos de resistencia frente a múltiples grupos de antibióticos, incluyendo aminoglucósidos, β -lactámicos, tetraciclinas, quinolonas y glicopéptidos como la vancomicina.

De forma intrínseca, poseen proteínas de unión a penicilina con baja afinidad por los β -lactámicos, pueden producir β -lactamasas y presentan una membrana con baja permeabilidad a estos antibióticos.

La resistencia a vancomicina en enterococos se debe a modificaciones en el peptidoglicano de la pared celular. Mientras que la vancomicina normalmente se une al extremo D-Ala-D-Ala de los precursores del peptidoglicano, en enterococos resistentes este extremo se reemplaza por D-Ala-D-lactato, lo que reduce significativamente la afinidad del antibiótico. Esta resistencia está codificada por genotipos denominados de VanA a VanG.

El ERV también puede presentar resistencia a aminoglucósidos, excepto a la estreptomicina. Esta resistencia se debe, en gran parte, a la producción de enzimas inactivadoras como la 2'-fosfotransferasa y la 6'-acetiltransferasa. En el caso de la estreptomicina, la resistencia se genera por la acción de la enzima estreptomicina adeniltransferasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio implicó distintas salas críticas del Hospital Provincial del Centenario.

En el año 2023, en la Unidad de Cuidados Intermedios (UCIN) se estudiaron 14 hisopados anales, en Unidad de Terapia Intensiva (UTI) 48, en Unidad Coronaria (UCO) un solo hisopado, y en Neonatología 6.

En 2024, se estudiaron 133 hisopados en UCIN, 228 en UTI, 32 en UCO, y 291 en Neonatología.

En lo que comprendieron los primeros tres meses del año 2025, en UCIN se estudiaron 58 hisopados, 68 en UTI, 11 en UCO, y 89 en Neonatología.

Los resultados fueron obtenidos sembrando las muestras en placas de Agar Sangre, Bilis-Esculina, CLDE y en medios cromogénicos comerciales para la detección de enterococos resistentes a Vancomicina y enterobacterias productoras de carbapenemasas.

Para el estudio estadístico se utilizó el programa REAL instalado en el Área asistencial de Bacteriología, de donde se pudieron obtener la totalidad de los resultados de las muestras, para poder crear en el programa Excel del paquete Office los distintos gráficos los cuales nos permitieron realizar las estadísticas.

RESULTADOS

Evaluando los datos recolectados de las salas de interés comprendidas en los periodos elegidos (año 2023, año 2024 y desde enero a marzo de 2025) se realizaron los gráficos 1, 2, 3 y 4. Cabe mencionar acerca de la diferencia entre la totalidad de los hisopados realizados y las muestras positivas, debido a que, en varios casos, se aisló más de un mecanismo de resistencia en una misma muestra.

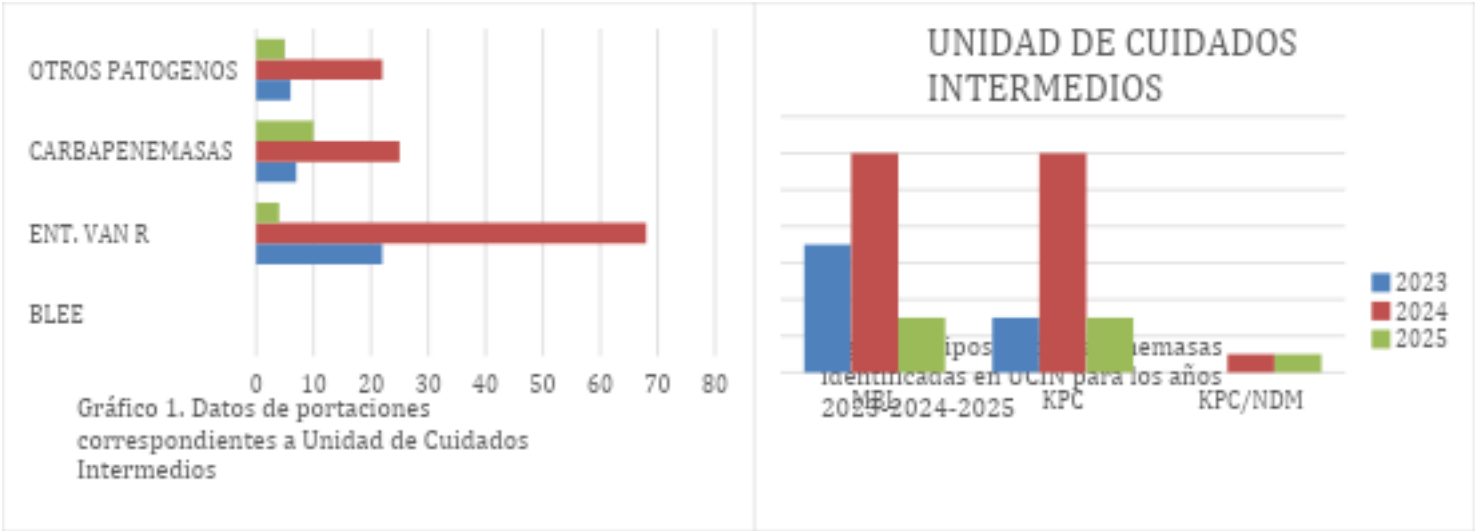
A partir del gráfico 1, donde se observan las estadísticas para la Unidad de Cuidados Intermedios, se puede observar que, para el año 2023, el hallazgo de portadores positivos fue 0% para β -Lactamasas de Espectro Extendido (BLEE), 28,6% para enterococos resistentes a Vancomicina (EVR), 71,4% para Carbapenemasas y 35,7% para otros patógenos.

Para el año 2024, el hallazgo de portadores positivos fue de 0% para BLEE, 51,1% para EVR, 18,8 % para Carbapenemasas y 16,5 % para otros patógenos. Finalmente, para los primeros 3 meses del año corriente, el hallazgo fue de 0%, 37,9%,12,1% y 10,3%, respectivamente.

Correspondiente a la figura A, podemos observar que, en 2023, la identificación de las distintas Carbapenemasas fue de 70% para Metallo β Lactamasas (MBL) y 30%

para Serin Carbapenemasas (KPC). En el año 2024, la identificación fue de 48% para MBL, 48% para KPC y 4% para un mecanismo doble que incluye KPC y un tipo de MBL identificada como New Delhi Metallo-β-lactamase (NDM). Lo que implicó enero, febrero y marzo de 2025, los datos recolectados arrojaron los siguientes resultados: 42,9% para MBL, 42,9% para KPC y 14,2% para KPC/NDM.

Dentro de los otros patógenos identificados, los resultados fueron, para el año 2023, 80% para *Acinetobacter baumannii* multirresistente y 20% para *Pseudomona aeuroginosa* multirresistente, para 2024, 81,8% y 18,2%, respectivamente, y para 2025, 66,7% para *Acinetobacter baumannii* multirresistente, 16,7% para *Pseudomona aeuroginosa* multirresistente, y 16,6% para *Staphylococos aeurus*.



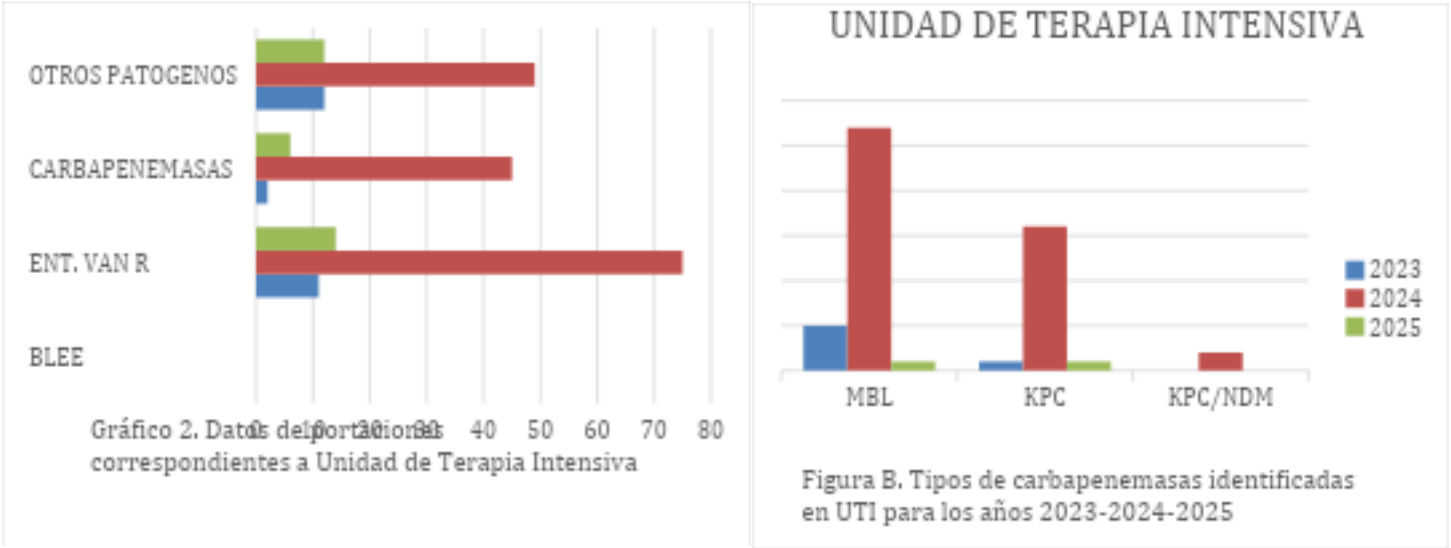
Para la Unidad de Terapia Intensiva (gráfico 2), en el año 2023, el hallazgo de portadores positivos fue 0% BLEE, 29,2% para EVR, 12,5% para Carbapenemasas y 25% para otros patógenos.

En el año 2024, el hallazgo de portadores positivos fue de 0% para BLEE, 32,9% para EVR, 19,7 % para Carbapenemasas y 21,5 % para otros patógenos. Finalmente, para los primeros 3 meses del año corriente, el hallazgo fue de 0%, 16,2%, 2,9% y 17,6%, respectivamente.

A partir de la figura B, podemos observar que, en 2023, la identificación de las distintas Carbapenemasas fue de 83,3% para Metallo β Lactamasas (MBL) y 16,7% para Serin Carbapenemasas (KPC). En el año 2024, la identificación fue de 60% para MBL, 35,6% para KPC y 4,4% para mecanismo doble KPC/NDM.

Correspondiente a enero, febrero y marzo de 2025, los datos recolectados arrojaron los siguientes resultados: 50% para MBL y 50% para KPC.

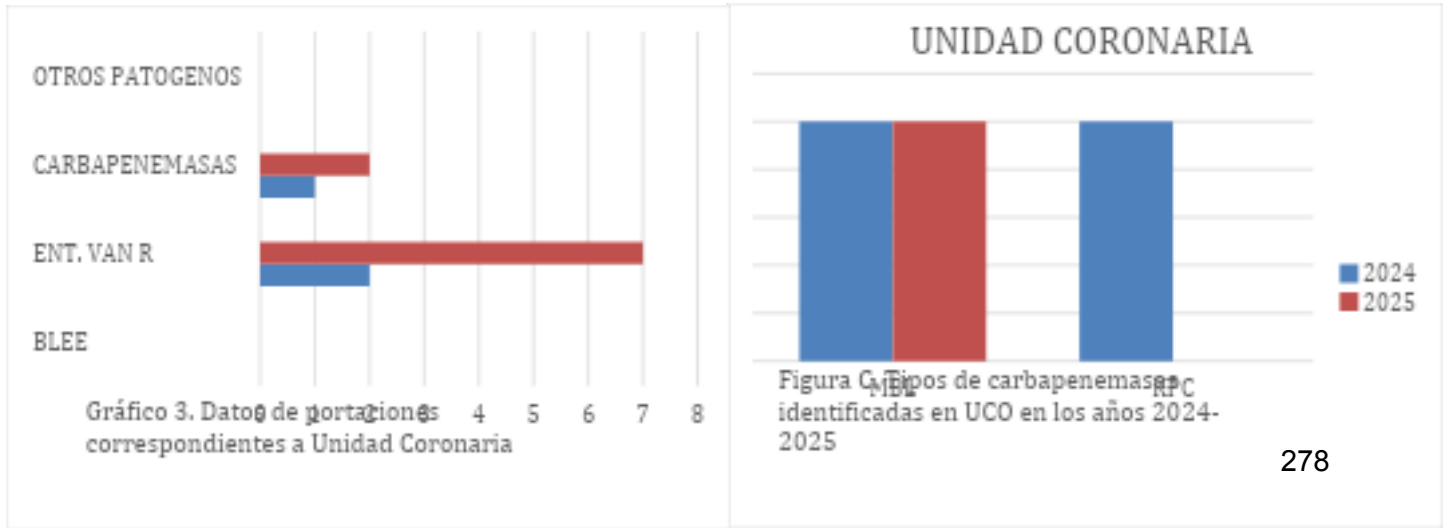
Dentro de los otros patógenos identificados, los resultados fueron, para el año 2023, 100% para *Acinetobacter baumannii* multirresistente, para 2024, 92% para *Acinetobacter baumannii* multirresistente y 8% para *Pseudomona aeuroginosa* multirresistente, y para 2025, 66,6% y 33,3%, respectivamente.



En Unidad Coronaria (gráfico 3), para el año 2023, el hallazgo de portadores positivos fue 0% para los cuatro mecanismos buscados.

En lo que respecta al año 2024, el hallazgo de portadores positivos fue de 0% para BLEE, 21,9% para EVR, 6,3% para Carbapenemasas y 0% para otros patógenos. Para los primeros 3 meses del año corriente, el hallazgo fue de 0%, 18,2%, 9,1% y 0%, respectivamente.

A partir de la figura C, podemos observar que, en 2024, la identificación de las distintas Carbapenemasas fue de 50% para MBL y 50% para KPC. En 2025, los datos recolectados arrojaron un resultado de 100% para MBL.

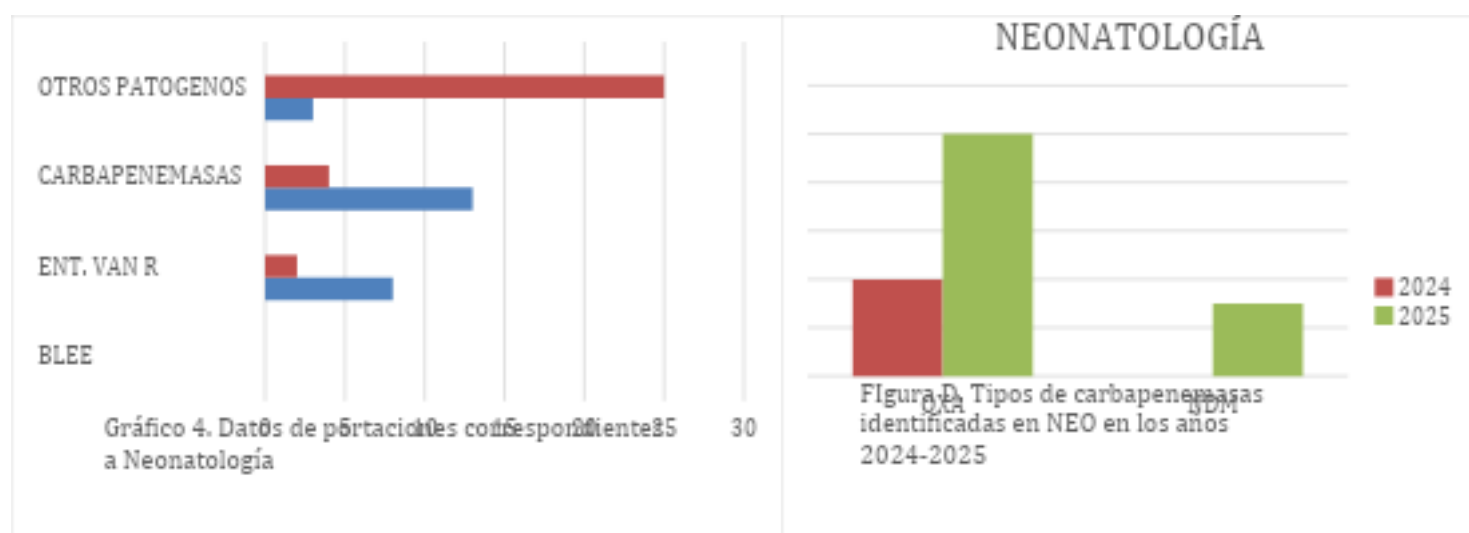


Finalmente, para la sala de Neonatología (gráfico 4), en el año 2023 los resultados recolectados para los hallazgos positivos fueron de 0% para los cuatro mecanismos buscados. Para el año 2024, los resultados fueron de 0% para BLEE, 0,7% para EVR, 1,4% para Carbapenemasas, y 8,6% para otros patógenos.

Para el primer trimestre del año 2025, los resultados recolectados fueron de 0% para BLEE, 9% para EVR, 14,6% para Carbapenemasas, y 3,4% para otros patógenos.

Como se observa en la figura D, dentro de las Carbapenemasas identificadas, para el año 2024 los resultados fueron de 100% para Oxaciclinasas (OXA). Para el año 2025, estos fueron de 23,1% para NDM y 76,9% para OXA.

Dentro de los patógenos identificados, en el año 2024 se observaron los siguientes resultados: 91,3% para *Stenotrophomona maltophilia*, 4,3% para *Acinetobacter baumannii* multirresistente y 4,4% para *Pseudomona aeuroginosa* multirresistente.



CONCLUSIÓN

La experiencia adquirida durante el desarrollo de las prácticas profesionales permitió una aplicación práctica de los conocimientos teóricos adquiridos durante la formación académica. A través del análisis de los datos recolectados en distintas salas del hospital (Unidad de Cuidados Intermedios, Unidad de Terapia Intensiva, Unidad Coronaria y Neonatología), correspondientes a los años 2023, 2024 y el primer trimestre de 2025, fue posible identificar tendencias relevantes en cuanto a la colonización por microorganismos multirresistentes y los mecanismos de resistencia

predominantes. Cabe mencionar, importante para el análisis, que en el año 2023 aún regían ciertas restricciones debido a la pandemia, lo que afecta el número de pacientes internados en las salas.

Los resultados obtenidos evidencian un aumento progresivo en la presencia de enterococos resistentes a Vancomicina (EVR) y Carbapenemasas, con variaciones específicas por sala y por año. En la Unidad de Cuidados Intermedios, se observó una disminución de las Carbapenemasas del 71,4% en 2023 al 12,1% en 2025, que, si bien es una diferencia notable, hay que tener en cuenta que los datos corresponden solo al primer trimestre del año. Con respecto a EVR se mantuvo una proporción constante y relevante. En cuanto a los mecanismos de resistencia, la identificación de combinaciones de KPC/NDM y el incremento relativo de NDM en el último período indican una evolución en la complejidad de los mecanismos de resistencia presentes.

En la Unidad de Terapia Intensiva, aunque el porcentaje de hallazgos positivos por Carbapenemasas disminuyó notablemente en 2025, se observó una alternancia en los tipos de mecanismos prevalentes, con una distribución relativamente pareja entre MBL y KPC. En paralelo, se identificó una persistente colonización por *Acinetobacter baumannii* multirresistente, aunque con una creciente diversidad de otros patógenos en el período más reciente, como *Pseudomona aeruginosa*.

En la Unidad Coronaria, si bien el número de hallazgos positivos fue menor en comparación con otras salas, los datos de 2024 y 2025 mostraron una incipiente aparición de Carbapenemasas y EVR.

Por su parte, la sala de Neonatología mostró un incremento significativo en la identificación de Carbapenemasas en 2025, con predominancia de OXA y NDM, además de la aparición de EVR. El hallazgo mayoritario de *Stenotrophomonas maltophilia* como patógeno relevante en 2024 y su posterior reemplazo parcial por otros agentes en 2025 pone en evidencia la dinámica cambiante del ecosistema microbiológico en esta población.

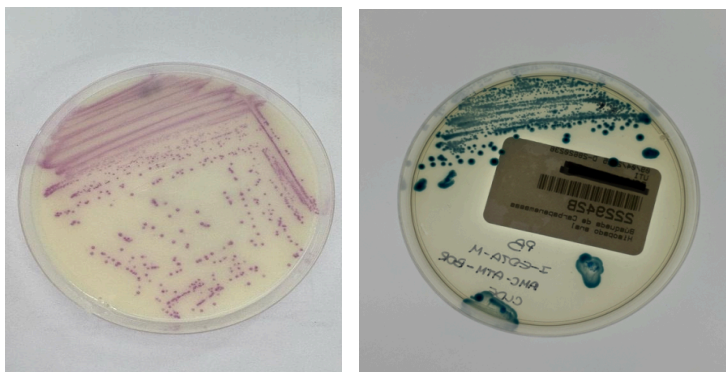
PERSPECTIVAS

Es clave considerar desde el rol del Laboratorio Asistencial de Bacteriología del Hospital frente a la solicitud del Comité de Infecciones que la pesquisa de estos mecanismos de resistencia en estas salas críticas es una herramienta fundamental de prevención y control de infecciones intrahospitalarias. No solo implica tareas técnicas, sino también un trabajo interdisciplinario constante, con un impacto directo en la seguridad del paciente, y la contención de brotes nosocomiales.

Anexo:

Por mi paso por el área en mis prácticas profesionales obligatorias pude realizar el estudio de varios de los hisopados que fueron utilizados para la confección de este trabajo, pudiendo participar del proceso pre-analítico tanto para la recepción de las muestras como su ingreso al sistema, del proceso analítico para la siembra de las muestras en las distintas placas y su visualización, y en el proceso post- analítico en la interpretación y validación de los resultados.

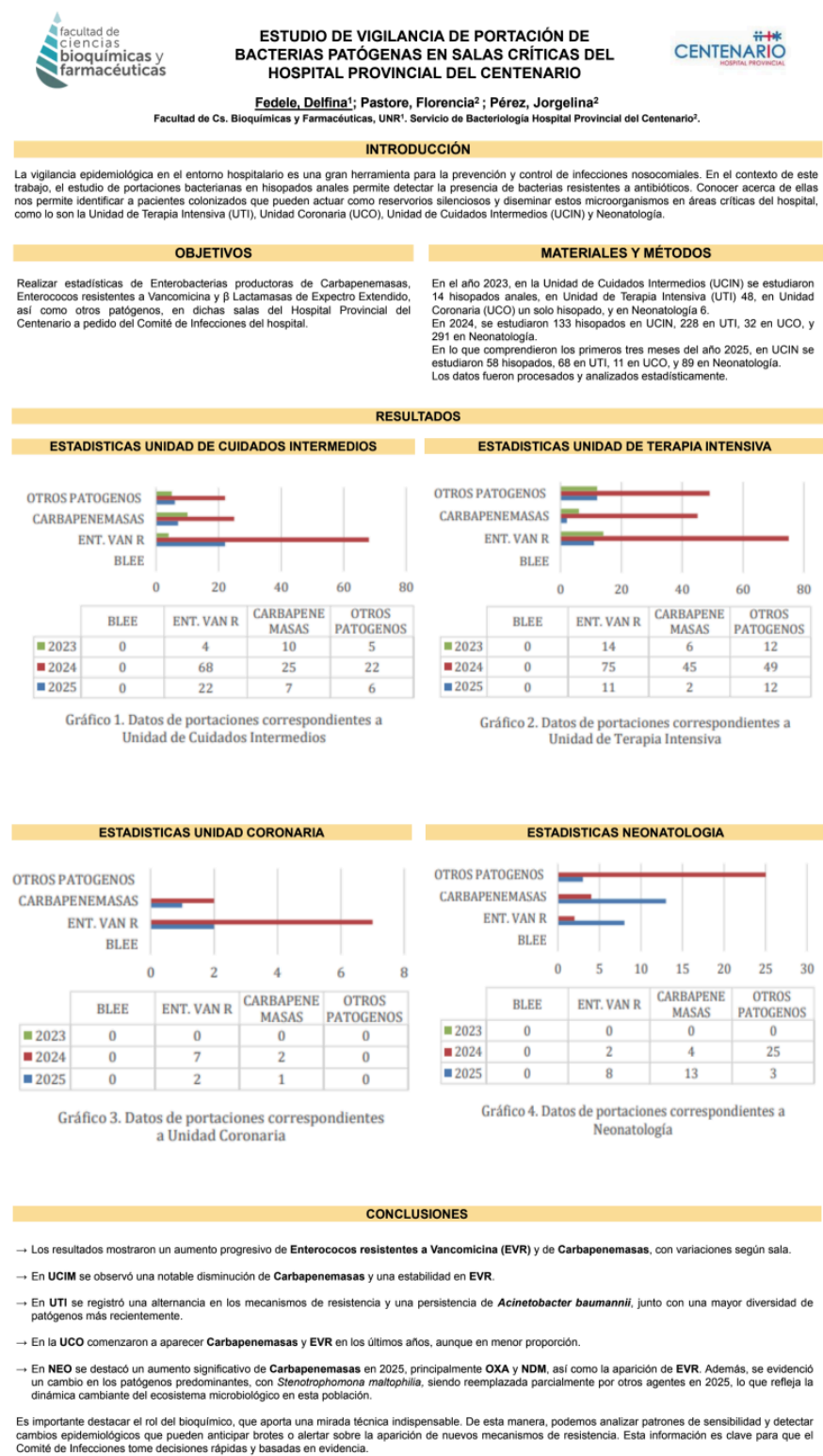
A continuación, se muestran fotos obtenidas de varios resultados del proceso analítico:



En la primera figura, se puede observar el aislamiento de enterococos resistentes a Vancomicina con su típica coloración malva en el medio cromogénico. En la siguiente figura se observa el aislamiento de enterobacterias productoras de Carbapenemasas, aislada en este caso, Klebsiella pneumoniae con su típico color azul metálico.

BIBLIOGRAFÍA

- Cetinkaya, Y., Falk, P., & Mayhall, C. G. (2000). Vancomycin-resistant enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4), 686–707.
<https://doi.org/10.1128/CMR.13.4.686-707.2000>
- Vera-Leiva, A., Barría-Loaiza, C., Carrasco-Anabalón, S., Lima, C., Aguayo-Reyes, A., Domínguez, M., Bello-Toledo, H., & González-Rocha, G. (2017). KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Revista Chilena de Infectología*, 34(5), 476–484. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000500476>
- Martínez-Martínez, L., & González-López, J. J. (2014). Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Types and molecular epidemiology. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(Suplemento 4), 4–9.
[https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(14\)70168-5](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(14)70168-5)
- MicrobeNotes. (s. f.). *Carbapenemases: definition, types, significance, bacteria*. <https://microbenotes.com/carbapenemases>



Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Práctica Profesional Obligatoria 2025

Aporte del urocultivo al diagnóstico de infecciones
genitales

Autoras: Rosales Guzmán Ma.Julieta

Lazcano Justina

Tutora: Colombo, Laura

Efector: Hospital Escuela Eva Perón

Presentación:

En este trabajo desarrollaremos la detección de *Neisseria gonorrhoeae* en el urocultivo de un paciente del Hospital Escuela Eva Perón durante el transcurso de nuestro tránsito por las Prácticas Profesionales de Bioquímica en el año 2025.

Caso clínico:

Paciente masculino de 38 años ingresa a la guardia del Hospital Escuela Eva Perón el día 12/05/2025. El mismo presenta disuria y aumento de la frecuencia miccional.

Se solicita al Laboratorio de Microbiología de dicha institución realizar un urocultivo.

Marco teórico:

El urocultivo es un estudio microbiológico que se realiza cuando hay sospecha de infección urinaria, esta se define como la invasión de microorganismos patógenos del aparato urinario que supera los mecanismos de defensa del huésped, provocando alteraciones y una respuesta inmunológica no siempre detectable.

Las infecciones se dividen en infecciones de las vías urinarias bajas tales como cistitis, uretritis y el síndrome uretral y las de las vías urinarias altas como pielonefritis aguda, pielonefritis crónica y abscesos renales.

Este estudio se realiza a partir de una muestra de orina de chorro medio, la cual se recolecta de la siguiente manera:

El paciente debe tener 3 horas de retención de orina como mínimo. La orina vesical debe ser un medio de cultivo con osmolaridad y concentración de nutrientes apropiados y ausencia de inhibidores. Para ello si es posible limitar la ingestión excesiva de líquidos y suprimir medicación diurética el día anterior a la recolección de la muestra. Los antibióticos en lo posible se deben suprimir 48 a 72 horas antes, salvo que se trate de control de tratamiento. La recolección del chorro medio se realiza siguiendo indicaciones tales como la limpieza de la zona genital con jabón nuevo, emisión del primer chorro de orina el cual se descarta y recolección en frasco estéril de la segunda parte de la micción. El frasco se guarda en heladera hasta el envío al laboratorio y/o hasta que se procese.

Se siembra en medio de cultivo CLDE pudiendo también ser empleados además medios cromogénicos, agar sangre u otros según el caso.

A partir del sedimento de dicha muestra se realiza un examen directo en fresco y una tinción Gram Nicolle .

En el caso del hombre la uretra es parte tanto del aparato genital como del urinario, por lo que, la sintomatología puede corresponder a infecciones en cualquiera de las vías.

La microbiota normal de la uretra en el hombre es:

- *Lactobacillus*
- *Staphylococcus aureus* y coagulasa negativa
- *Streptococcus* alfa, beta y gamma hemolíticos
- Bacilos difteroides
- *Enterococcus* spp
- Enterobacterales
- Bacilos no fermentadores
- Bacterias anaerobias (*Prevotella*, *Veillonella*)
- Micoplasmas

La uretritis es una infección que afecta a la uretra, ocasionando la inflamación e irritación del conducto uretral. Presenta síntomas tales como disuria, aumento de la frecuencia miccional, sensación de pesadez en los genitales, molestias al eyacular y dependiendo del agente etiológico puede estar acompañado de secreción o no.

La uretritis puede ser no infecciosa o infecciosa siendo la última clasificada como uretritis gonocócica y uretritis no gonocócica. El agente etiológico de la uretritis gonocócica es la *Neisseria gonorrhoeae* y de la uretritis no gonocócica los que se presentan con más frecuencia son *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma* spp y en menor medida *Mycoplasma genitalium*.

Para su diagnóstico se puede emplear:

-Exudado uretral: para su recolección se debe indicar al paciente previamente evitar relaciones sexuales 48 horas antes de la toma de la muestra. También deben transcurrir 72 horas desde la última toma de antibióticos y una semana luego de la colocación de tópicos. Debe tener 4 horas de retención de orina.

Se introduce un hisopo estéril en la uretra y se rota sobre las paredes de la misma, se hacen frotis. Con otro hisopo se vuelve a realizar el mismo procedimiento y se coloca en un tubo con 0,5 ml de solución fisiológica. Se toma una tercera muestra con un hisopo y se lo coloca en un tubo con medio de transporte Stuart. Se conserva a temperatura ambiente.

-Primer chorro de orina: posteriormente de la higienización de los genitales el paciente debe recolectar los primeros 10 ml de micción. Debe tener al menos 4 horas de retención de orina. Esta muestra puede emplearse en reemplazo del exudado uretral.

Neisseria gonorrhoea presenta las siguientes características:

- Patógeno exclusivamente humano
- Diplococo gramnegativo
- Inmóvil
- Muy sensibles a condiciones ambientales adversas
- No esporulado
- Encapsulado
- Aerobio estricto
- Exigente nutricional
- Posee metabolismo oxidativo
- Invade exclusivamente mucosas provistas de epitelio columnar a los que se fija por estructuras filamentosas o pili.

Factores de virulencia:

- Cápsula: le permite adherirse y tiene capacidad antifagocítica.
- Pilis en gran cantidad que favorece la adhesión.
- Proteínas de membrana externa: porinas A y B, Opa-, Rmp-
- Lípido A y oligosacárido central
- Lipoproteínas
- Proteínas reguladoras del hierro
- Proteasas de inmunoglobulina A: le permite escindir la Ig A de la mucosa.

El diagnóstico se realiza a partir de:

- Un exámen directo de la muestra
- Coloración de Gram Nicolle
- Cultivo: puede ser realizado en medios enriquecidos como agar sangre, agar chocolate o GC o medios selectivos como el Thayer Martin. Se incuba a 35-37° en atmósfera de CO₂ durante 24-48 hs con 90% de humedad.
- Identificación presuntiva: a partir de pruebas bioquímicas oxidasa positiva y catalasa positiva y la observación previa del microorganismo en la tinción de Gram Nicolle.

-Identificación confirmatoria: con pruebas bioquímicas para determinar la producción de ácidos a partir de glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa (glucosa positiva y el resto negativo), métodos automatizados y espectrometría de masas.

Detección de antígenos PIA y PIB de la proteína PI de la membrana externa por ELISA, inmunocromatografía o inmunofluorescencia directa.

Detección de ácidos nucleicos a partir de PCR.

En 2017 la OMS lo incluye como un Patógeno de Alta Prioridad por la necesidad de investigar y desarrollar nuevos antibióticos y una vacuna eficaz, debido al incremento de infecciones por cepas resistentes y falta de vacuna.

Una vez identificado el microorganismo se procede a realizar la prueba de sensibilidad antimicrobiana por difusión teniendo en cuenta los requerimientos especiales de esta bacteria: medio de cultivo agar base GC con 1% de suplementos; incubación $35^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$, atmósfera 5% de CO_2 durante 20-24 horas.

Resultados:

Se realiza el urocultivo solicitado a partir de la muestra de orina de chorro medio. Se siembra en agar CLDE y un medio cromogénico. Se realiza examen directo en fresco donde se observa abundante reacción inflamatoria y una tinción Gram Nicolle en donde se observan diplococos gram negativos intracelulares. (Figura N°1)

Se sospecha la presencia de *Neisseria gonorrhoeae* y se decide sembrar la muestra en agar sangre y agar chocolate a 37° con 5% de CO_2 y en 48 horas después se observan colonias redondas pequeñas de color blancas. (Figura N°2)

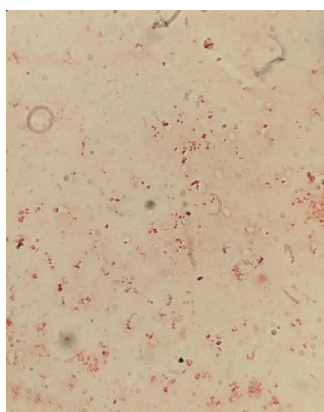


Figura N°1 Tinción Gram Nicolle en donde se observan diplococos gram negativos intracelulares.



Figura N°2 Aspecto de las colonias observadas en agar sangre 48hs después de la incubación.

Desde una colonia del medio de agar sangre se realizan dos pruebas bioquímicas: Oxidasa y Superoxol (prueba de la catalasa con peróxido de hidrógeno al 30%) dando como resultado ambas positivas. En el contexto del paciente estas pruebas son prácticamente confirmatorias.

Se decide realizar una prueba de PCR en Cobas 4800 CT/NG a partir de la muestra de orina del urocultivo en el área de Biología Molecular del Hospital Escuela Eva Perón la cual resultó detectable con un CT de 27,7 siendo el punto de corte menor a 37.

Teniendo ya el diagnóstico de *Neisseria gonorrhoeae* se procede a realizar un antibiograma por difusión en medio agar base GC más 1% de suplementos empleando discos de ciprofloxacina 5 ug, azitromicina 15 ug y tetraciclina 30 ug en atmósfera de 5% de CO₂ a 35° durante 20 horas los cuales se informaron como intermedio con un halo de 30 mm, sensible con un halo de 44 mm e intermedio con un halo de 36 mm respectivamente. (Figura N°3)

Los halos de ciprofloxacina y tetraciclina se interpretaron según normas del CLSI y el de azitromicina según recomendación del Instituto Nacional de Referencia. (Tabla N°1)



Figura N°3: Antibiograma por difusión en medio agar base GC más 1% de suplementos luego de las 20 horas de incubación.

Antibiótico	S	I	R
Tetraciclina (30 ug)	> a 38 mm	31-37 mm	≤30 mm
Ciprofloxacina (5 ug)	≥a 41 mm	28-40 mm	<27 mm
Azitromicina (15 ug)	≥30 mm	-	≤29 mm

Tabla N° 1: Puntos de corte para interpretar el antibiograma por difusión

Discusión y Conclusiones:

Los signos y síntomas que presentaba el paciente, disuria y aumento de la frecuencia miccional, coinciden con la posibilidad de que se encuentre un agente etiológico de infección urinaria. Pero teniendo en cuenta que la uretra forma también parte del aparato genital masculino dichos signos y síntomas comparten ciertas similitudes con la uretritis. En este paciente se identificó *Neisseria gonorrhoeae* agente etiológico de uretritis gonocócica una infección de transmisión sexual a pesar de tratarse de una muestra diferente a la ideal para su diagnóstico. Es por eso que creemos importante remarcar el empleo de la tinción Gram Nicolle del sedimento urinario ya que a partir de esta determinación es que se pudo sospechar de su presencia, emplear el medio agar sangre para sembrar la muestra en condiciones de humedad y 5% CO₂, observar su macromorfología en la placa, realizar las pruebas bioquímicas mencionadas, la PCR, el antibiograma indicado y finalmente informar.

Neisseria gonorrhoeae, como otros agentes de ITS, posee alta transmisibilidad, creciente resistencia antimicrobiana y riesgo de complicaciones si no se diagnostica y trata oportunamente. La presencia de leucocituria sin bacterias visibles debe hacer sospechar infecciones por *Chlamydia trachomatis* o *Trichomonas vaginalis*, y orientar su búsqueda específica.

Perspectivas:

Desde el enfoque de la microbiología clínica, este caso resalta la importancia de una observación minuciosa en el examen directo de la orina siendo el sedimento urinario y la tinción de Gram Nicolle una herramienta esencial, especialmente en contextos con recursos limitados o sin acceso inmediato a pruebas moleculares.

Es fundamental insistir en mejorar la calidad de las muestras, minimizando contaminaciones uretrales o vaginales, ya que estas interfieren en la interpretación del urocultivo. Sin embargo, cuando la “contaminación” revela signos sugestivos de patología genital, como vaginosis bacteriana o, especialmente, infecciones de transmisión sexual (ITS), el laboratorio debe comunicarlo activamente al clínico, recomendando su investigación.

Finalmente, estas infecciones exigen una mirada también desde la salud pública: identificar, notificar y tratar adecuadamente, así como promover el testeo de parejas sexuales, son medidas clave para frenar la transmisión. El rol del laboratorio trasciende el diagnóstico individual y se extiende a la vigilancia epidemiológica, en un contexto de aumento preocupante de ITS, especialmente en adolescentes y varones jóvenes.

Bibliografía:

- Bailey. Scott. (2009). Diagnóstico Microbiológico 12th ed. Capítulo 57: “Infecciones del Tracto Genital”. Capítulo 58: “Infecciones del Tracto Urinario”. Médica Panamericana.

-J van Hal S., Sherry N., Coombs G., Mowlaboccus S., Whiley D. M. (2004). Emergence of an extensively drugresistant Neisseria gonorrhoeae clone. The Lancet Infectious diseases Vol 24-.

[https://www.thelancet.com/pdfs/journals/laninf/PIIS1473-3099\(24\)00486-9.pdf](https://www.thelancet.com/pdfs/journals/laninf/PIIS1473-3099(24)00486-9.pdf)

- Cuello A., Fridman V. (2005). Recomendaciones de diagnóstico y tratamiento de las Infecciones de Transmisión Sexual de la Comisión HIV/SIDA y de ITS de la Sociedad Argentina de Infectología.

<https://www.sau-net.org/capitulos/infecciones/recomendaciones-SADI-2020.pdf>

-Rapoport M. NOVEDADES-CLSI-EUC AST-2025.pdf__Servicio Antimicrobianos Laboratorio Nacional de Referencia en Resistencia a los Antimicrobianos Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS “Dr. C. G. Malbrán” (2021).

<https://antimicrobianos.com.ar/wp-content/uploads/2025/04/>

-Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100. 31st ed. Wayne, PA: CLSI; (2021)

-WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. World Health Organization (2017).

<https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual (ITS).(2022).

<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia24a.pdf>

APORTE DEL UROCULTIVO AL DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES GENITALES

ROSALES GUZMÁN, MA. JULIETA¹; LAZCANO, JUSTINA¹;
MARTINEZ, CECILIA^{1,2}; COLOMBO, LAURA^{1,2}

¹FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS, UNR. ²HOSPITAL ESCUELA EVA PERON,

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las infecciones urinarias y genitales representan una de las causas más frecuentes de consulta clínica. Su diagnóstico temprano es esencial para iniciar un tratamiento adecuado, prevenir complicaciones y limitar la transmisión de infecciones de transmisión sexual (ITS). El urocultivo, además de ser una herramienta fundamental en la pesquisa de infecciones urinarias, puede aportar información valiosa en la sospecha y confirmación de ITS. El propósito de este trabajo es destacar su importancia desde el enfoque de la microbiología clínica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se presenta el caso de un paciente masculino de 38 años que acudió a la guardia con disuria y polaquiuria. Se le solicitó y recibió instrucciones para toma y conservación de orina de chorro medio.

En el laboratorio se efectuó:

- a-Examen directo en fresco y por coloración de Gram del sedimento urinario
- b-Siembra en agar CLDE y medio cromogénico al los que se agregaron posteriormente agar sangre y agar chocolate.
- c-Pruebas bioquímicas de identificación y de sensibilidad del aislamiento.
- d-Confirmación molecular de la identificación.

RESULTADOS

El examen microscópico directo reveló la presencia de diplococos Gram negativos intracelulares (Figura 1) compatibles con el género *Neisseria*.

El crecimiento en agar (Figura 2) permitió aislar colonias características, y las pruebas bioquímicas manuales —oxidasa positiva y superóxido dismutasa positiva (catalasa con H₂O₂ al 30%) (Figura 3) — respaldaron la identificación presuntiva de *Neisseria gonorrhoeae*, la cual fue posteriormente confirmada mediante PCR en tiempo real.

El antibiograma, realizado de acuerdo con las normas del CLSI y del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G. Malbrán", mostró en el medio de cultivo agar GC sensibilidad intermedia a ciprofloxacina y tetraciclina, y sensibilidad a azitromicina (Figura 4).

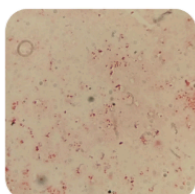


FIGURA 1



FIGURA 2



FIGURA 3

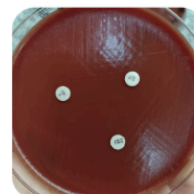


FIGURA 4

CONCLUSIÓN

Si bien la muestra recibida no fue tomada correctamente para urocultivo, ya que mostraba arrastre de material uretral, permitió alertar sobre la presencia de una posible infección de transmisión sexual. A pesar de que el exudado uretral es la muestra ideal, el urocultivo posibilitó la detección de *Neisseria gonorrhoeae*. Este caso resalta la importancia del examen microscópico del sedimento urinario y del trabajo conjunto entre la clínica y el laboratorio. El hallazgo contribuye no solo al diagnóstico individual, sino también a la vigilancia epidemiológica de las ITS.

Trabajo Final de la Práctica Profesional Obligatoria
Carrera Bioquímica

Descripción de métodos de análisis automatizados
utilizados para el diagnóstico de Diabetes Mellitus
(DM) en un laboratorio de Rosario

Integrantes:

- Rici, María Florencia
- Rios, Juan Gabriel

Tutor académico:

- Pretto, Lautaro

Institución: Laboratorios Turner. Balcarce 622. Rosario.

Año 2025

INTRODUCCIÓN

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 muestras remitidas desde otros laboratorios (servicio a colegas).⁽¹⁾

OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivo describir en detalle cómo se realizan, en el Área de Analítica Automatizada del laboratorio clínico “Laboratorios Turner” de Rosario, dos determinaciones bioquímicas fundamentales para el diagnóstico y el seguimiento de la diabetes mellitus: la glucemia plasmática y la hemoglobina glicosilada (HbA1c). A partir de la experiencia adquirida durante nuestra práctica profesional, buscamos explicar el funcionamiento del equipamiento automatizado utilizado, así como los fundamentos metodológicos. De este modo, se pretende resaltar el valor del análisis clínico automatizado en la atención integral del paciente diabético.

MARCO TEÓRICO

La denominación de diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, resultante de defectos en la secreción, en la acción de la insulina o de ambos mecanismos.⁽²⁾

Clasificación: la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por su sigla en inglés), clasifica a la diabetes mellitus (DM), según su etiología, en:

- DM tipo 1 (DM1): debida a la destrucción autoinmune de células β , que generalmente conduce a una deficiencia absoluta de insulina.⁽³⁾ Sus primeras manifestaciones clínicas suelen ocurrir alrededor de la pubertad, cuando ya la función se ha perdido en alto grado y se requiere insulinoterapia.⁽⁵⁾
- DM tipo 2 (DM2): debido a una pérdida progresiva de la secreción de insulina, además de una resistencia a la acción de la insulina.⁽³⁾
- Tipos específicos de DM debidos a otras causas:
 - Síndromes de DM monogénica: la DM neonatal, DBT mitocondrial, DM tipo MODY (maturity-onset diabetes of the young; DM del adulto de comienzo en la juventud) y síndromes monogénicos de resistencia a la insulina.⁽³⁾
 - Diabetes LADA (*latent autoimmune diabetes in adults*): presenta características tanto de la DM1 como de la DM2. Usualmente, su diagnóstico

se basa en tres criterios: 1) Debut de sintomatología en edad adulta; 2) Presencia de anticuerpos anti-islotos; 3) No dependencia de insulina.⁽⁴⁾

- Enfermedades del páncreas exocrino (fibrosis quística y pancreatitis).⁽³⁾
- DM inducida por fármacos o sustancias químicas (glucocorticoides, en el tratamiento del VIH/SIDA, o después del trasplante de órganos).⁽³⁾
- DM gestacional: diabetes diagnosticada en el segundo o tercer trimestre del embarazo que no fue una diabetes claramente evidente antes de la gestación.⁽³⁾

Criterios diagnósticos de diabetes: se resumen en la Tabla 1:

Tabla 1. Criterios diagnósticos de diabetes según el Ministerio de Salud de la Nación⁽⁶⁾

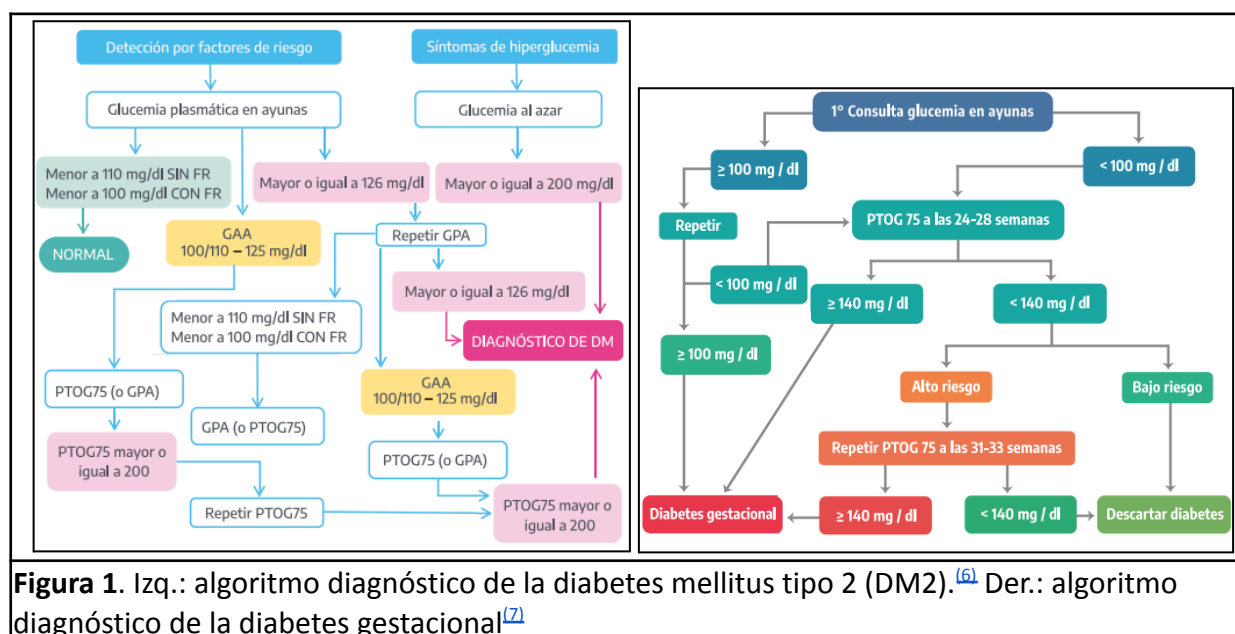
Prueba	Resultados e interpretaciones		
Glucemia plasmática en ayunas (GPA)	Normal: <110 mg/dL (sin factores de riesgo*) o <100 mg/dL (con factores de riesgo*)	Glucemia en ayunas alterada (GAA): 110-125 mg/dL (sin factores de riesgo*) o 100-125 mg/dL (con factores de riesgo*)	Punto de corte: 126 mg/dL Diabetes: GPA ≥126 mg/dL, más otra prueba (GPA, PTOG75 o HbA1c) realizada otro día, con resultado igual o mayor a su punto de corte
Glucemia plasmática al azar			≥200 mg/dL con síntomas cardinales**
PTOG75 (glucemia plasmática tras 2 horas de carga oral con 75 g de glucosa anhidra disueltos en 375 mL de agua)	Normal: <140 mg/dL	Tolerancia a la glucosa alterada (TGA): 140-199 mg/dL	Punto de corte: 200 mg/dL Diabetes: ≥200 mg/dL, más otra prueba (GPA, PTOG75 o HbA1c) realizada otro día, con resultado igual o mayor a su punto de corte
HbA1c estandarizada	Normal: <5,7%	Prediabetes: 5,7%-6,4%	Punto de corte: 6,5% Diabetes: ≥6,5%, más otra prueba (GPA, PTOG75 o HbA1c) realizada otro día, con resultado igual o mayor a su punto de corte ⁽⁶⁾

(*) Factores de riesgo: edad igual o mayor a 45 años; familiar de primer grado con DM2; mujeres con antecedentes de diabetes gestacional o macrosomía fetal; tolerancia a la glucosa alterada (TGA) o glucemia alterada en ayunas (GAA); sobrepeso (IMC 25-29.9 kg/m²) u obesidad (IMC igual o mayor a 30 kg/m²); actividad física insuficiente, sedentarismo; enfermedad cardiovascular establecida, hipertensión arterial (HTA); dislipemia: colesterol HDL < 35 mg/dL o triglicéridos > 250 mg/dL; tabaquismo; síndrome de ovario poliquístico.⁽⁶⁾

(**) Síntomas clásicos o síntomas cardinales de diabetes: aumento en el apetito, poliuria, polidipsia y pérdida inexplicable de peso.^[5]

Algoritmos diagnósticos: el Ministerio de Salud de la Nación recomienda un algoritmo diagnóstico para la DM2 (se muestra en la Figura 1) debido a que:

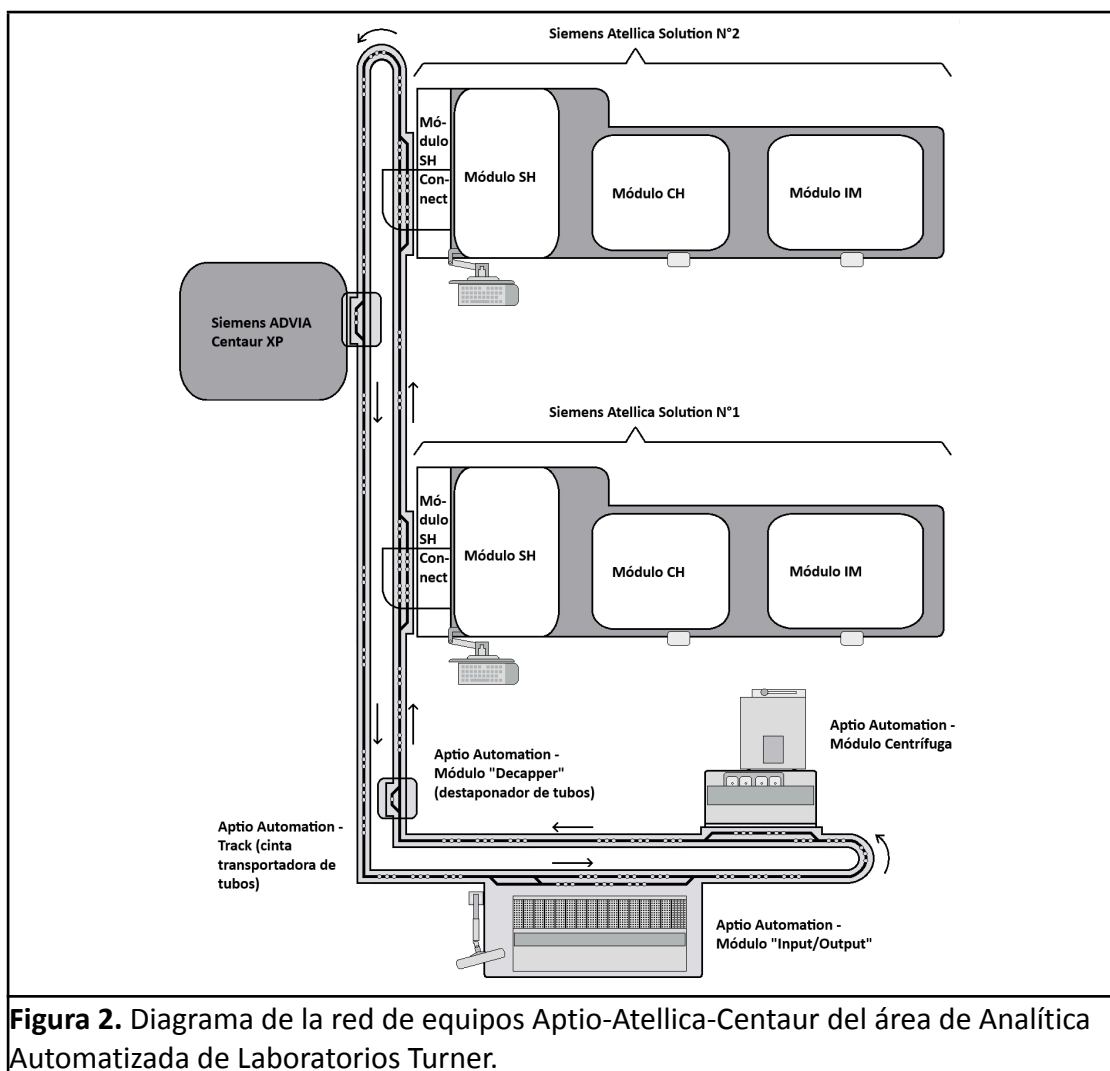
- La glucemia plasmática en ayunas (GPA) es el método de preferencia y el primer estudio que se sugiere realizar.^[6]
- La DM2 representa el 90-95% del total de los casos de diabetes.^[6]
- La DM2 es una enfermedad crónica, de lenta evolución cuyo carácter silencioso en las primeras etapas puede determinar que muchas veces la persona presente complicaciones crónicas al momento del diagnóstico.^[6]



A su vez, el Ministerio de Salud de Argentina recomienda un algoritmo diagnóstico para la diabetes gestacional (se muestra en la Figura 1), ya que es la complicación metabólica más frecuente del embarazo, aumenta el riesgo de diversas complicaciones obstétricas y feto-neonatales y, en el largo plazo, se asocia con aumento del riesgo cardio-metabólico a lo largo de toda la vida de estas personas y de su descendencia, entre otras complicaciones.^[7]

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

El Área de Analítica Automatizada cuenta con un sistema de automatización de pruebas de laboratorio, con tecnología provista por Aptio® Automation (Siemens), diseñado a medida (se muestra un diagrama del mismo en la Figura 2).



Este sistema integra, en serie, y a través de una cinta transportadora de tubos de circulación continua (Aptio® Automation "Track"):

- Un módulo Input/Output de Aptio: para el ingreso de muestras a procesar en tubos y su salida una vez completas, o su recuperación (cuando se ordena al equipo la salida de una muestra antes de que se complete su análisis). Este equipo toma tubos desde gradillas específicamente diseñadas para el mismo (por Inpeco, fabricante de los componentes de Aptio), las cuales están identificadas con un código alfanumérico y uno de barras, que el equipo registra al introducirlas. Carga los tubos en la banda, lee sus etiquetas, y le asigna un destino dentro del circuito según su etiqueta.⁽⁸⁾
- Un módulo Centrífuga de Aptio: toma tubos desde la cinta, los centrifuga, y los devuelve a la cinta, si es que estos tubos fueron ingresados por alguna línea "a centrifugar" del módulo Input/Output.⁽⁸⁾

- Un módulo Decapper de Aptio: toma tubos con tapa desde la cinta, los destapa y los devuelve a la cinta, si es que fueron ingresados por alguna línea “con tapa” del módulo Input/Output.⁽⁸⁾
- Dos analizadores de inmunoensayo y química clínica Atellica® Solution. Cada uno de ellos consiste en:
 - ◆ Un módulo SH (*sample handler*): cuenta con gradillas para el ingreso manual de muestras y su extracción una vez finalizado el análisis.
 - ◆ Un módulo CH (*chemistry*): hace determinaciones de química clínica.
 - ◆ Un módulo IM (*immunoassay*): hace determinaciones mediante inmunoensayos.

A su vez, cada analizador cuenta con un equipo anexo denominado Atellica Sample Handler Connect, que toma muestras a procesar de la cinta y las reubica allí una vez procesadas. Los módulos SH, CH, IM y Sample Handler Connect se conectan por el sistema Atellica Magline®, donde pequeños carros magnéticos transportan los tubos entre módulos de forma rápida, bidireccional y de velocidad variable.⁽⁹⁾

- Un analizador de inmunoensayo ADVIA Centaur® XP: toma muestras desde la línea y las reubica allí una vez procesadas.

DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN EL LABORATORIO TURNER

Muestras

Es muy importante saber las consideraciones que debemos tener en cuenta al momento de recolectar las muestras para medir glicemia. La determinación de glucosa es una de las pruebas de laboratorio más solicitadas porque es uno de los criterios para el diagnóstico de diabetes, sea en ayunas o postprandial.

Las Guías y recomendaciones para el diagnóstico y manejo de la Diabetes Mellitus publicado en el 2011 por la Academia Nacional de Bioquímica Clínica (NACB) menciona lo siguiente: a) la glucosa debe ser medida en plasma por la mañana después de 8 horas de ayuno; b) las células y el plasma se deben separar dentro de los 30 minutos y c) utilizar un tubo con inhibidor de glucólisis si no se puede separar inmediatamente.⁽¹⁶⁾

Los criterios establecidos por la NACB tratan de reducir el efecto de la glucólisis que existe en el tubo de recolección, en el que el tiempo desde que se recolecta la muestra hasta la centrifugación es un punto crítico, dado que existe consumo de glucosa en sangre ex vivo,

por el cual los valores de glucosa pueden disminuir en promedio entre 5 a 7% por hora^{(16) (17)}; además, la glucólisis puede variar por la presencia de otros factores como la leucocitosis, trombocitosis y elevado hematocrito⁽¹⁷⁾. Por esto, las muestras deben ser centrifugadas inmediatamente y la glucosa medida antes de las dos horas.

Para el diagnóstico de diabetes, la Organización Mundial de salud recomienda glucosa en sangre capilar y plasma; mientras que la Asociación Americana de Diabetes recomienda solo glucosa en plasma. Se utiliza plasma porque no se ve influenciado por el hematocrito, es fácil de separar, además la concentración en plasma es 11% más alto que sangre si el hematocrito es normal⁽¹⁷⁾ porque hay mayor cantidad de agua en plasma.

Cada tubo de recolección tiene ventajas y desventajas; en los tubos con gel separador de suero (SS[®]) se pueden medir diferentes compuestos bioquímicos, pero para obtener un coágulo perfecto como recomienda el productor se debe esperar 30 minutos o más en caso de pacientes que tienen problemas de coagulación; los tubos con heparina sódica o de litio tienen la ventaja que se puede centrifugar inmediatamente después de la recolección, pero puede interferir en la medición de cloruro, también en las reacciones antígeno - anticuerpo, causa falsos bajos niveles de albúmina.⁽¹⁸⁾

Finalmente encontramos los tubos con fluoruro de sodio, con la principal ventaja que se puede centrifugar rápidamente e inhibe la glucólisis y estabiliza la glucosa por 72 horas^{(17) (18)}; pero esto recién ocurre a las 4 horas después de la recolección de la muestra porque las primeras horas la concentración de glucosa en plasma disminuye y la concentración es similar a la de los tubos sin fluoruro de sodio. Esto se debe que el fluoruro de sodio inhibe la enzima denominada enolasa en la ruta de la glucólisis; estos tubos son inapropiados para medir otras sustancias como Na⁺, K⁺ y enzimas.⁽¹⁸⁾

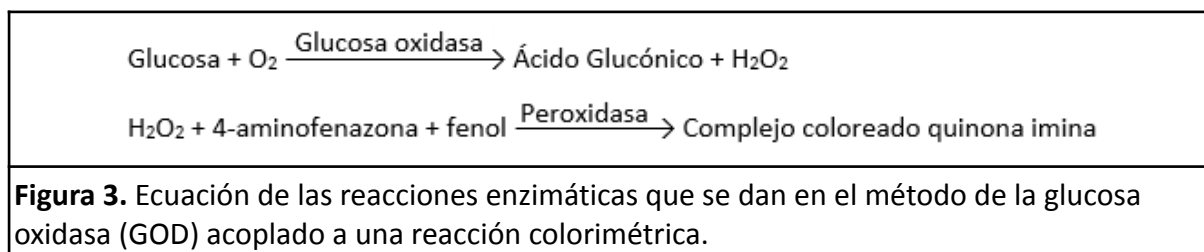
Entonces, frente a las consideraciones mencionadas, Laboratorios Turner para el procesamiento de la glicemia procesa muestras de: tubos de suero (para sus pacientes ambulatorios) y tubos de fluoruro (tubo ideal para muestras de colegas), asegurando así un resultado adecuado de glucosa.

Equipo: la determinación la realiza el módulo CH de Atellica. El equipo se conecta a una red de agua destilada con la que cuenta el laboratorio y a una red de desechos líquidos, pero además requiere nueve líquidos adicionales para su funcionamiento (específicos para el

sistema Atellica y comercializados por Siemens), que incluyen diluyentes, líquidos de lavado, un refrigerante y un aditivo.⁽¹⁰⁾

Reactivo: reactivo líquido, listo para usar, denominado Atellica CH GluO. Contiene un sólo cartucho. Composición: fenol (55 mmol/L), 4-aminofenazona (3,85 mM); glucosa oxidasa microbiana ($\geq 7,5$ kUI/L), peroxidasa de rábano picante ($\geq 7,5$ UI/L), azida de sodio (0,04%), buffer.⁽¹⁰⁾ La azida de sodio es usado como conservante en reactivos de uso en laboratorios por sus propiedades bacteriostáticas, inhibiendo varias enzimas, principalmente las que participan en la respiración celular.^{(12) (13)}

Método: se utiliza el método enzimático de la Glucosa Oxidasa (GOD) acoplado a una reacción colorimétrica, también enzimática.⁽¹⁰⁾



Procedimiento de la determinación:

1. El equipo dispensa 50 µL de la muestra y 200 µL de Atellica CH Diluent en una cubeta de dilución.
2. Dispensa 20 µL de reactivo y 96 µL de agua destilada en la cubeta de reacción.
3. Dispensa 4 µL de muestra prediluida en la cubeta de reacción.
4. Mezcla e incuba a 37°C.
5. Mide absorbancia a 505/694 nm.
6. Calcula e informa resultados.⁽¹⁰⁾

Duración del análisis: 10 min.⁽¹⁰⁾

Intervalo de cuantificación: 6-750 mg/dL.⁽¹⁰⁾

DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN EL LABORATORIO TURNER

Muestras: sangre entera venosa anticoagulada.⁽¹¹⁾ Anticoagulantes recomendados: EDTA-K2, EDTA-K3, heparina de litio, el EDTA disódico/fluoruro sódico.⁽¹¹⁾

Flujo de muestras: los tubos son ingresados, destapados y previamente homogeneizados de forma manual, al módulo SH de Atellica.

Equipo: la determinación la realiza el módulo de química CH de Atellica. Esta determinación está programada para hacerse en ambas unidades de Atellica. Los líquidos necesarios para el funcionamiento del equipo son los mismos que para determinación de glucosa.

Reactivos:

- Reactivo 1 (R1). Composición: sal de sodio de 10-carboximetilaminocarbonil-3,7-bis (dimetilamino) fenotiazina (0,000817%); azida de sodio (<0.1%); proteasa (bacteriana, 10 mU/L); ProClin 300.
- Reactivo 2 (R2). Composición: peroxidasa de rábano picante (50-150 kU/L); oxidasa de péptidos fructosilo recombinante de *E. coli* (3-9 kU/L); ofloxacina.
- Reactivo de pretratamiento o reactivo PRE. Composición: Nitrito de sodio (>0,05 - <0,3%); ProClin 300, ácido maleico (<1%).⁽¹¹⁾

Hemoglobina + oxidante (Nitrito de sodio) $\longrightarrow$ Metahemoglobina

Metahemoglobina + azida $\longrightarrow$ Complejo azida-metahemoglobina } Medición de absorbancia a 478/694 nm

B-globina $\xrightarrow{\text{Proteasa}}$ Dipéptidos fructosilo N-terminal

Dipéptidos fructosilo N-terminal + O₂ $\xrightarrow{\text{FPOX}}$ H₂O₂

H₂O₂ + 4-aminofenazona + fenol $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ Complejo coloreado quinona imina } Medición de absorbancia a 658/805 nm

Figura 4. Sucesión de reacciones que se dan en la determinación. Las ecuaciones no están balanceadas, sólo se muestran los productos o reactivos de interés.

Método: el equipo realiza la determinación en tres pasos:

- Diluye una alícuota de muestra y, tras el agregado del reactivo PRE, lisa los eritrocitos y oxida toda la hemoglobina presente a metahemoglobina.
- Tras el agregado del R1: una proteasa separa el dipéptido fructosilo N-terminal de las cadenas β -globina de la hemoglobina A1 (que se encuentra como metahemoglobina por el paso anterior). La metahemoglobina total forma el complejo azida-metahemoglobina. El equipo determina hemoglobina total (tHb) midiendo la absorbancia generada por este complejo a 478/694 nm.
- Tras el agregado del R2: una oxidasa de péptidos fructosilo (FPOX) reacciona con los dipéptidos fructosilo y genera peróxido de hidrógeno que, en una reacción acoplada, genera un producto coloreado, cuya absorbancia el equipo mide a 658/805 nm.⁽¹¹⁾

Procedimiento de la determinación:

- El equipo dispensa 4,5 µL de la muestra primaria y 100 µL de reactivo PRE en una cubeta de dilución.
- Dispensa 80 µL del R1 en una cubeta de reacción.
- Dispensa 8,3 µL de muestra prediluida en el paso 1 en una cubeta de reacción.
- Mezcla e incuba la mezcla a 37°C.
- Mide la absorbancia para tHb.
- Dispensa 27 µL del R2 en la cubeta de reacción del paso 3.
- Mezcla e incuba la mezcla a 37°C.
- Mide la absorbancia para A1c.
- Informa de los resultados. [\(11\)](#)

Duración del análisis: 10 min. [\(11\)](#)

Intervalo de cuantificación: 3,80-14,00%. [\(11\)](#)

CALIBRACIÓN DEL EQUIPO PARA LOS MÉTODOS UTILIZADOS

Para que el equipo realice cualquier ensayo, debe estar calibrado con los calibradores adecuados. Los calibradores para los métodos denominados comercialmente Atellica CH GluO y Atellica CH A1c_E, son Atellica CH CHEM CAL y Atellica CH A1c_E CAL, respectivamente. Se deberá realizar una calibración:

- Al final del intervalo de calibración de un lote de reactivo (35 días para GluO, 180 días para A1c_E).
- Cuando cambie de número de lote de reactivo.
- Al final del intervalo de calibración de un cartucho de reactivo (7 días para GluO, 63 días para A1c_E).
- Cuando lo requieren los resultados de control de calidad.
- Después de una tarea de mantenimiento o reparación importante. [\(10\)](#) [\(11\)](#)

CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

Control de Calidad Interno (CCI): es un proceso estadístico donde se estudia la precisión y veracidad de las mediciones de los distintos analitos para verificar el desempeño analítico de los métodos y para detectar errores sistemáticos y aleatorios.

Una vez procesados los controles y corroborado que los resultados se encuentren dentro de la especificación del fabricante, se registran los valores de los controles obtenidos día a día en una gráfica de Levey-Jennings. Para un punto (x,y) de este gráfico de control:

- El valor de x representa el día de la medición (eje x: tiempo).
- El valor de y representa la concentración del analito determinada en el material de control (eje y: concentración del analito).
- Mediante líneas horizontales, se señalan la media y los valores $-1s$, $1s$, $-2s$, $2s$, $-3s$ y $3s$, donde s: desvío estándar.⁽¹⁴⁾

Analizando diariamente el gráfico, se determina si un resultado está “fuera de control” (cuando el analito no cumple con una o más reglas de control establecidas).⁽¹⁵⁾ En ese caso, se deberá detener el análisis, investigar la fuente del error que causa que los resultados estén fuera de control y corregirlo.

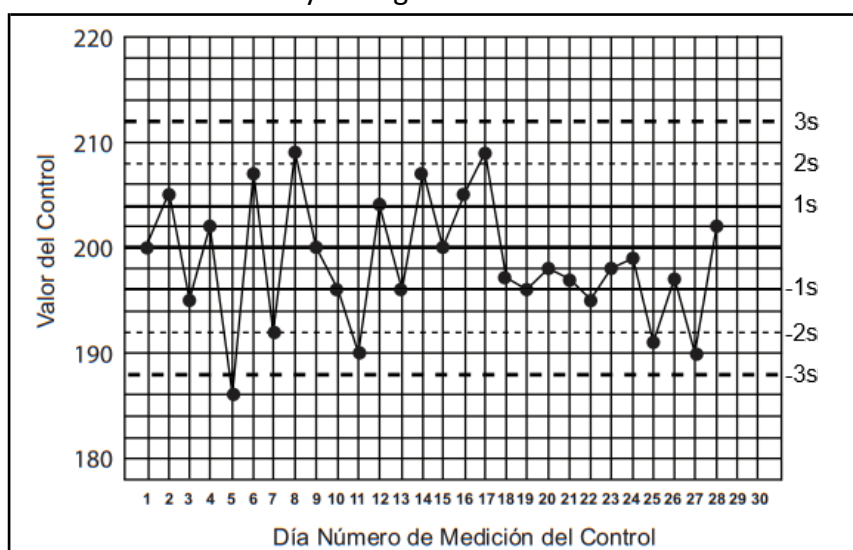


Figura 5. Ejemplo de un gráfico de control Levey-Jennings para colesterol total (mg/dL)⁽¹⁴⁾

Control de Calidad

Externo (CCE): en un programa de CCE, varios laboratorios (que se hayan inscriptos voluntariamente al programa) comparten un pool común (que se renueva periódicamente) de materiales de control, y reportan los resultados a un programa interlaboratorio. con estos resultados, se crea una base de datos que

proporciona información estadística, que se puede usar para describir o definir: imprecisión intralaboratorio e interlaboratorios; desvío individual del laboratorio con respecto a un grupo par; y relación de los parámetros analíticos y estadísticos de imprecisión y el desvío relativo a los requisitos médicos.⁽¹⁴⁾ Existen programas de CCE nacionales e internacionales y que cubren las distintas especialidades del laboratorio clínico.

Laboratorios Turner, para el analito glucosa, participa en los programas ProgBA del CEMIC (Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas “Norberto Quirno”) y PEEC (Programa de Evaluación Externa de Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina o FBA), y para hemoglobina glicosilada sólo en ProgBA.

CONCLUSIÓN

Durante la Práctica Profesional Obligatoria realizada en Laboratorios Turner, observamos cómo el uso de tecnologías automatizadas en el análisis clínico contribuye significativamente

a la obtención de resultados confiables, rápidos y estandarizados, fundamentales en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus. El abordaje de estas dos pruebas claves (glicemia y HbA1c) nos permitió profundizar no sólo en sus fundamentos bioquímicos, sino también en su aplicación dentro del flujo de trabajo de un laboratorio moderno. Ambas pruebas, realizadas en el sistema Atellica® Solution, evidencian la integración eficiente de automatización, control de calidad y seguridad en los procesos, lo cual garantiza datos clínicamente útiles para la toma de decisiones médicas. Este recorrido formativo no solo fortaleció conocimientos técnicos, sino que también brindó una comprensión más completa del rol del bioquímico en la medicina, en especial frente a enfermedades como la diabetes, donde el laboratorio cumple un papel esencial en la prevención, diagnóstico oportuno y control efectivo del paciente.

BIBLIOGRAFÍA (se citan fuentes en formato Vancouver)

1. Laboratorios Turner. Institucional [Internet]. [Consultado 12 jun 2025]. Disponible en: <https://laboratorioturner.com.ar/institucional/#institucional>
2. Mediavilla Bravo, JJ. La diabetes mellitus tipo 2. Medicina Integral. [Internet]. 2002 [Consultado 12 jun 2025]. 39(1): 25-35. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-la-diabetes-mellitus-tipo-2-13025480>
3. American Diabetes Association, Professional Practice Committee. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes - 2025. Diabetes Care [Internet]. 2025 [Consultado 12 jun 2025]. 48(1): 27-49. Disponible en: <https://doi.org/10.2337/dc25-S002>
4. Carlsson S. Etiology and Pathogenesis of Latent Autoimmune Diabetes in Adults (LADA) Compared to Type 2 Diabetes. Frontiers in Physiology [Internet]. 2019 [Consultado 12 jun 2025]. 10(320). Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00320>
5. Asociación Latinoamericana de Diabetes. Definición y diagnóstico de la diabetes. Revista de la ALAD [Internet]. 2019 [Consultado 12 jun 2025]. 11-15. Disponible en: https://revistaalad.com/guias/5600AX191_guias_alad_2019.pdf
6. Ministerio de Salud de la Nación - Dirección Nacional de Abordaje Integral de Enfermedades No Transmisibles. Guía de Práctica Clínica Nacional sobre Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) 2019. [Internet]. 2019 [Consultado 12 jun 2025]. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bancos/2020-09/guia-nacional-practica-clinica-diabetes-mellitus-tipo2_2019.pdf
7. Ministerio de Salud de la Nación. Diagnóstico de diabetes gestacional. Puntos de corte. Protocolo nacional basado en evidencia [Internet]. Jul 2023 [Consultado 12 jun 2025]. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/bancos/2023-08/Protocolo_de_Diabetes_Gestacional_2023.pdf
8. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. Aptio Automation Technical Specifications Brochure [Internet]. 2023 [Consultado 12 jun 2025]. Disponible en:

https://marketing.webassets.siemens-healthineers.com/af0f671321d7907a/cd5e221c12d5/siemens-healthineers_aptio-automation.pdf

9. Siemens Healthineers. Atellica Solution [Internet]. [Consultado 12 jun 2025].

Disponible en:

<https://www.siemens-healthineers.com/laboratory-diagnostics/clinical-chemistry-and-immunoassay-systems/atellica-solution-analyzers>

10. Siemens Healthineers. Atellica CH Glucosa Oxidasa (GluO) [Inserto]. 2017.

11. Siemens Healthineers. Enzymatic Hemoglobin A1c (A1c_E) [Inserto]. 2019.

12. Abcam. Sodium azide: applications, safety risks, and sustainable alternatives

[Internet]. [Consultado 23 jun 2025]. Disponible en:

https://www.abcam.com/en-us/knowledge-center/cell-biology/sodium-azide?srsId=AfmBOopmf4iQ-LRSamBPo-GqaHk7-SO9V3EltM8LwS8duBjBxA0e_X8x

13. Hall, AH. Chapter 88 - Cyanide and Related Compounds—Sodium Azide. En: Shannon MW, Borron SW, Burns MJ. Haddad and Winchester's Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose. 4ta Ed. Saunders; 2007. 1309-1316. Disponible en:

<https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0693-4.50093-1>

14. Westgard, JO. Prácticas básicas de control de la Calidad. 3a Ed. [Internet]. Westgard QC; 2010 [Consultado 26 jun 2025]. Disponible en:

<https://colbiosa.com.ar/wp-content/uploads/2018/08/Practicas-Basicas-de-Control-de-la-Calidad-James-Westgard-1.pdf>

15. Suárez L. Procesé los controles ¿y ahora qué?. En: Seminario con invitados de la empresa Wiener lab para la asignatura electiva Control de Calidad en Química Clínica de la FBioyF-UNR. Rosario: 2025. Disponible en:

https://wienerlaboratorios-my.sharepoint.com/:b:/g/personal/luciana_suarez_wiener-lab_com/ESA0v_YEhkBDviifTu_IXWwB3dEnv-dcuE4yXjjBdb8UiQ?e=V8yteS

16. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem. [Internet] 2011 [Consultado 1 ago 2025]; 57(6): e1-e47. Disponible en:

<https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.161596>

17. Janssen K, Delanghe J. Importance of the pre-analytical phase in blood glucose analysis. *Acta Clin Belg* [Internet] 2010 [Consultado 1 ago 2025]; 65(5): 311-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1179/acb.2010.068>
18. Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med.* [Internet] 2014 [Consultado 1 ago 2025]; 24(1): 31-44. Disponible en: <https://doi.org/10.11613/bm.2014.006>



DESCRIPCIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS AUTOMATIZADOS UTILIZADOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS EN UN LABORATORIO DE ROSARIO



Rici, María Florencia¹; Ríos, Juan Gabriel¹; Lombardo, Alejandra²; Pretto, Lautaro¹

¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario (FBIOF-UNR)

²Laboratorios Turner

INTRODUCCIÓN

La denominación de diabetes mellitus (DM) comprende un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, resultante de defectos en la secreción, en la acción de la insulina o de ambos mecanismos. En el diagnóstico y el seguimiento de la DM son importantes dos determinaciones de laboratorio: la glicemia (útil en las pruebas de: glicemia en ayunas, glicemia al azar y prueba de la tolerancia oral a la glucosa o PTOG) y la hemoglobina glicosilada (útil para el seguimiento del tratamiento, aunque también tiene valores de corte diagnósticos).

Prueba	Resultados e interpretaciones
Glucemia plasmática en ayunas (GPA)	Normal: <110 mg/dL (sin factores de riesgo*) o <100 mg/dL (con factores de riesgo*) Glucemia en ayunas alterada (GAA): 110-125 mg/dL (sin factores de riesgo*) o 100-125 mg/dL (con factores de riesgo*) Diabetes: GPA ≥126 mg/dL, más otra prueba (GPA, PTOG75 o HbA1c) realizada otro día, con resultado igual o mayor a su punto de corte
Glucemia plasmática al azar	≥200 mg/dL con síntomas cardinales
PTOG75	Normal: <140 mg/dL Tolerancia a la glucosa alterada (TGA): 140-199 mg/dL Diabetes: ≥200 mg/dL, más otra prueba (GPA, PTOG75 o HbA1c) realizada otro día, con resultado igual o mayor a su punto de corte
HbA1c estandarizada	Normal: <5,7% Prediabetes: 5,7%-6,4% Diabetes: ≥6,5%, más otra prueba (GPA, PTOG75 o HbA1c) realizada otro día, con resultado igual o mayor a su punto de corte

(*) Factores de riesgo: edad ≥ 45 años; familiar de 1er grado con DM2; mujeres con antecedentes de DMG o macrosomía fetal; TGA o glucemia en ayunas alterada; sobrepeso (IMC 25-29.9 kg/m²) u obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²); sedentarismo; enfermedad cardiovascular establecida; HTA; dislipemia: HDL-C < 35 mg/dL o TG > 250 mg/dL; tabaquismo; síndrome de ovario poliquístico.

(**) Síntomas clásicos o síntomas cardinales de diabetes: aumento en el apetito, poluria, polidipsia y pérdida inexplicable de peso.

OBJETIVOS

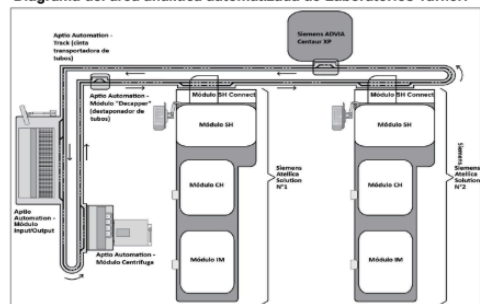
Describir cómo se realizan, en el Área de Analítica Automatizada de "Laboratorios Turner", dos determinaciones bioquímicas: la glucemia plasmática y la hemoglobina glicosilada (HbA1c), explicando el funcionamiento del equipamiento automatizado utilizado, así como los fundamentos metodológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

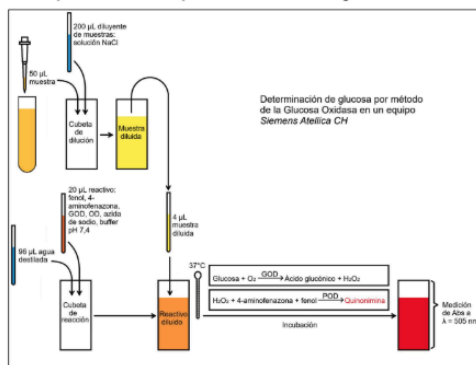
Laboratorios Turner cuenta con un sistema de automatización de pruebas de laboratorio, con tecnología provista por Siemens, que integra distintas herramientas (equipos y software) de pre-analítica, analítica y procesamiento de resultados. Los equipos donde se realizan las pruebas que describimos son los módulos de química CH. Las muestras de elección son:

- Para la determinación de glucosa: suero (para pacientes ambulatorios del laboratorio) y/o plasma con EDTA y fluoruro (para muestras de colegas).
- Para la determinación de hemoglobina glicosilada: sangre entera con EDTA.

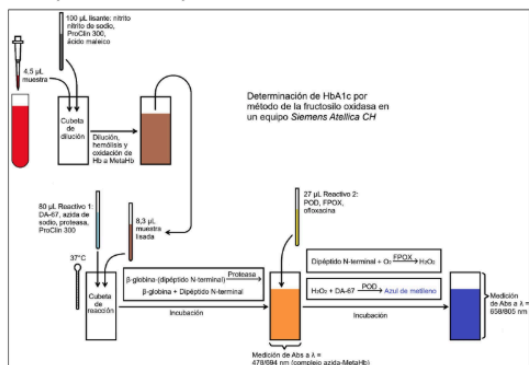
Diagrama del área analítica automatizada de Laboratorios Turner:



Descripción del método para determinación de glucosa:



Descripción del método para determinación de HbA1c:



CONCLUSIONES

El uso de tecnologías automatizadas en el análisis clínico contribuye a la obtención de resultados confiables, rápidos y estandarizados, fundamentales en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus. El abordaje de estas dos pruebas claves (glucemia y HbA1c) nos permitió profundizar no sólo en sus fundamentos bioquímicos, sino también en su aplicación dentro del flujo de trabajo de un laboratorio moderno. Además de fortalecer conocimientos técnicos, también nos brindó una comprensión más completa del rol del bioquímico en la medicina.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA
2025

El proteinograma por electroforesis
como apoyo diagnóstico a diversas patologías

Autores:

Godoy, Anahí Loreley

Rojas, Horacio Francisco

Instituto de rotación:

IBC - Instituto de Bioquímica Clínica

Tutora:

Bioq. Hernández, Malen

Coformadora:

Dra. Ostera, Delia

Presentación:

Durante el cursado de la Práctica Profesional Obligatoria de la carrera de Bioquímica, tuvimos la oportunidad de realizar nuestra rotación en el laboratorio IBC, donde recorrimos diversas áreas que enriquecieron significativamente nuestra formación. Elegimos desarrollar el presente trabajo en el Área de Proteínas-Serología, enfocándonos específicamente en la importancia del proteinograma por electroforesis en suero como herramienta de apoyo diagnóstico en distintas patologías. Esta experiencia nos permitió adquirir conocimientos técnicos y teóricos muy valiosos para nuestro futuro profesional, así como comprender en profundidad el rol fundamental que desempeña esta técnica en la práctica bioquímica cotidiana. El presente trabajo refleja no solo lo aprendido, sino también el compromiso con la aplicación clínica de los métodos bioquímicos en beneficio del diagnóstico y seguimiento del paciente.

Marco teórico:

La electroforesis es una técnica que permite la migración de partículas cargadas en un campo eléctrico y separa proteínas del suero debido a la variabilidad en sus cargas. En la práctica clínica, se utilizan métodos con soportes sólidos o líquidos para obtener fracciones celulares o séricas útiles en el diagnóstico de enfermedades. Estos métodos han evolucionado desde sistemas de movimiento de frontera hasta soportes sólidos como papel, gel de agarosa, celulosa o membranas de fibra de vidrio, los cuales ofrecen mejor resolución.

La electroforesis comenzó a desarrollarse tras el estudio de proteínas en el siglo XIX, siendo la electroforesis en papel una de las primeras técnicas. Esta implicaba aplicar un campo eléctrico a proteínas sobre papel, separándolas según su punto isoeléctrico. Un fenómeno relevante en este método es la endosmosis, el movimiento del solvente inducido por el campo eléctrico y las cargas del papel, lo cual puede alterar la migración y requiere ajustes de pH y buffer.

Un avance importante fue la electroforesis en gel, donde las proteínas migran según su carga, que varía con el pH, lo que permite separar fracciones como albúminas y globulinas y detectar anomalías. Actualmente, técnicas como la electroforesis en gel de agarosa y la electroforesis capilar permiten una mejor resolución, útil para identificar proteínas monoclonales y pequeñas proteínas en

suelo u otros fluidos. Además de separar, estas técnicas permiten cuantificar y caracterizar proteínas.

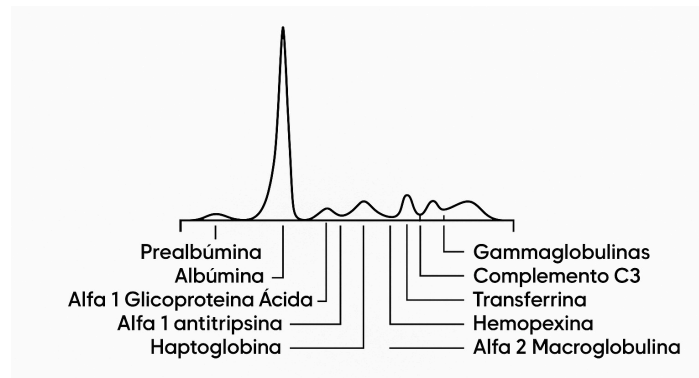


Gráfico 1: Identificación de fracciones en el proteinograma.

Las alteraciones en los tejidos responsables de la síntesis o excreción de proteínas, provocadas por distintas enfermedades, pueden reflejarse en el perfil electroforético del suero, mostrando patrones característicos de valor diagnóstico. A continuación, se describen brevemente algunas patologías asociadas a estos perfiles.

Gammapatías monoclonales:

Se trata de un grupo de enfermedades con presencia en sangre y/u orina de una proteína monoclonal, la cual puede ser una inmunoglobulina completa o solo cadenas livianas κ o λ , y de diferentes clases pesadas (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE). Se caracterizan por la expansión clonal de células B maduras.

Las formas más frecuentes son las Gammapatías Monoclonales de Significado Incierto (GMSI), detectadas como bandas monoclonales en el proteinograma de pacientes mayores de 50 años sin síntomas ni alteraciones en médula ósea (<10% células plasmáticas) ni en calcemia, creatinina o hemoglobina. Otra gammapatía monoclonal es el mieloma múltiple que se caracteriza por >10% células plasmáticas en médula ósea, proteína monoclonal en suero y/u orina y disfunción orgánica. Las lesiones óseas y orgánicas del mieloma, debido a la infiltración medular por las células neoplásicas y la acumulación de la proteína monoclonal incluyen: hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas.

Hipogammaglobulinemia:

Es una condición caracterizada por niveles bajos de inmunoglobulinas en sangre, lo que conlleva una mayor susceptibilidad a infecciones. Esta alteración puede deberse a errores innatos de la inmunidad, también conocidos como

inmunodeficiencias primarias, que no solo aumentan el riesgo de infecciones, sino que también se asocian con autoinmunidad, inflamación, alergias y ciertas malignidades. Estas inmunodeficiencias son causadas por mutaciones monogénicas que generan una pérdida o ganancia de función en las proteínas codificadas por los genes afectados. Se clasifican en inmunodeficiencias que afectan la inmunidad celular y humoral, combinadas con otros síndromes, deficiencias predominantes de anticuerpos (como agammaglobulinemia ligada al sexo, síndrome de hiperIgM, inmunodeficiencia común variable, deficiencias de subclases de IgG o IgA, hipogammaglobulinemia infantil), enfermedades por inmunodesregulación, defectos congénitos de fagocitos, inmunidad innata, síndromes autoinflamatorios, deficiencia de complemento, insuficiencia medular y fenocopias.

Las inmunodeficiencias humorales secundarias son más frecuentes, suelen ser multifactoriales y están asociadas a neoplasias hematológicas (leucemias, linfomas), terapias anti-linfocitos B (anti-CD20, rituximab), drogas inmunosupresoras convencionales y enfermedades por pérdida de proteínas.

Hipergammaglobulinemia:

Se refiere a la sobreproducción de más de una clase de inmunoglobulinas por parte de las células plasmáticas. Se asocia con mayor frecuencia a enfermedades hepáticas, inflamación aguda o crónica, trastornos autoinmunes como el síndrome de Sjögren, trastornos hematológicos como la neutropenia idiopática, neoplasias malignas no hematológicas, infecciones como el virus de la inmunodeficiencia humana, y algunas neoplasias malignas.

Durante infecciones activas, monocitos y macrófagos reconocen PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos) y DAMPs (patrones asociados a peligro) a través de receptores tipo Toll (TLR), lo que inicia una cascada inmunitaria que induce la liberación de IL-6. Esta estimula a los hepatocitos a producir reactantes de fase aguda como PCR, fibrinógeno, hepcidina y haptoglobina. El estudio puede complementarse con hemograma completo, frotis, VSG, PCR, enzimas hepáticas, ANA, ANCA, C3, C4, serologías virales, estudios de imagen, cuantificación de inmunoglobulinas, perfil de citoquinas y pruebas genéticas para inmunodeficiencias.

Resultados:

Técnica usada en IBC:

El área de Serología y Proteínas del laboratorio IBC, se especializa en proteinogramas por electroforesis en suero y orina. En este trabajo nos enfocamos en el primero mencionado, utilizando el sistema semiautomatizado Hydrasys (SEBIA), kits Hydragel, un escáner de placas y el software Phoresis para análisis e interpretación.

El Hydrasys LC es un equipo semiautomatizado multiparamétrico que automatiza las etapas de electroforesis en geles de agarosa Hydragel, facilitando la estandarización y eficiencia. Puede realizar múltiples pruebas manuales como proteínas séricas, inmunofijación, entre otras. Ejecuta automáticamente la aplicación de muestra, migración, incubación, tinción, decoloración y secado del gel. Los kits, geles y reactivos son desarrollados y validados por SEBIA. Luego, las placas se escanean y el software PHORESIS CORE permite interpretar, validar y gestionar los perfiles electroforéticos.

Especificaciones de uso:

Los geles Hydragel están diseñados para separar proteínas de suero y orina humana mediante electroforesis en gel de agarosa en medio alcalino (pH 9,2). Durante el proceso, las proteínas se tiñen con negro amido para visualización. La evaluación visual detecta alteraciones en la migración, y la densitometría permite cuantificar cada fracción con precisión. Cada gel analiza simultáneamente 30 muestras de suero.

Etapas	Acción
Preparación	Seleccionar el programa en el equipo Hydrasys. Colocar 10 µl de suero en los aplicadores y dejarlos en cámara húmeda durante 5 minutos. Preparar esponjas tamponadas y montarlas en los electrodos. Preparar el gel, colocarlo en el módulo de migración y cerrar el compartimento para dar inicio.
Migración automática	La migración se realiza a 20 W, 20 °C, durante ~7 minutos. Los electrodos se desconectan automáticamente. Secado del gel a 65 °C durante 10 minutos y luego enfriamiento a 50 °C.
Tinción	Retirar el gel seco, colocarlo en el módulo de tinción y dar inicio
Finalización	Escanear el gel y analizar resultados con el software PHORESIS .

Tabla 1: Protocolo de trabajo.

Análisis de datos utilizando software PHORESIS:

Una vez escaneadas las placas, el software PHORESIS permite analizar las corridas electroforéticas mediante una interfaz. Muestra hasta 48 curvas en pantalla con código de colores para facilitar la interpretación y detectar automáticamente valores anormales. Además, permite editar, añadir comentarios y comparar con patrones de referencia o resultados previos del paciente.

Control de calidad:

El control de calidad es fundamental para garantizar resultados confiables. En cada corrida se usa un suero control valorado (Sebia PN4785) para verificar la correcta separación de fracciones proteicas, la reproducibilidad y la ausencia de errores o artefactos. Los criterios de aceptación son bandas bien definidas, distribución esperada de fracciones y ausencia de bandas atípicas o desplazamientos. Si hay desviaciones, se repite la corrida, se revisan reactivos, gel, aplicadores y esponjas, y se documenta el incidente.

FRACCIONES	VALOR MEDIO en %	2DS	3DS
Albúmina	62.1	(60.22 - 63.98)	(59.28 - 64.92)
Alfa 1	2.8	(2.38-3.22)	(2.17-3.43)
Alfa 2	10.4	(9.70-11.10)	(9.34-11.45)
Beta	11.8	(10.56-13.00)	(9.94-13.66)
Gamma	12.9	(11.60 - 14.20)	(10.95 - 14.85)

Tabla 2: Valores de referencias utilizados en IBC junto con sus desvíos.

Aspectos preanalíticos para la realización de proteinogramas:

Tipo de muestra:

La muestra de elección para el estudio electroforético de proteínas es el suero fresco, obtenido por venopunción. Debe recogerse en un tubo sin anticoagulante y dejarse reposar hasta lograr la coagulación completa.

Ayuno:

Se recomienda que la extracción se realice tras un ayuno de 8 horas, a fin de evitar interferencias por hiperlipemia.

Conservación y estabilidad de la muestra:

Después de la centrifugación, se debe separar el suero del paquete globular lo antes posible. La muestra es estable hasta 24 horas a temperatura ambiente (20–25 °C), hasta 7 días refrigerada (4–8 °C) y hasta 3 semanas congelada (–20 °C).

Se recomienda evitar ciclos repetidos de congelación/descongelación, ya que esto puede degradar proteínas del complemento, especialmente la fracción β -2-globulina. Para el procesamiento, la muestra debe estar entre 18 y 24 °C.

Interferencias:

Lipemia:

La elevada concentración en sueros hiperlipémicos puede dificultar la interpretación, pudiendo simular un aumento en la fracción beta o incluso un componente monoclonal cuando se usa soporte sólido. Se recomienda evitar trabajar con sueros hiperlipémicos.

Hemólisis:

Los complejos haptoglobina-hemoglobina formados durante la hemólisis in vitro pueden provocar ensanchamiento o desdoblamiento de la fracción α -2. La presencia de hemoglobina libre también puede alterar la fracción β -1. Por ello, es preferible trabajar con sueros sin hemólisis. En caso contrario, debe indicarse en el informe que la muestra presenta hemólisis.

Fibrinógeno:

El fibrinógeno normalmente no está presente en suero bien procesado. Puede aparecer cuando el suero no se separa correctamente del coágulo, si se usa plasma o en pacientes con tratamiento anticoagulante, lo que puede interferir en la interpretación del estudio. Su presencia puede manifestarse como una distorsión en la fracción β -2 o como una banda homogénea en la zona de la gamma rápida. Por ello, no se deben usar muestras de plasma para electroforesis, y si se detecta fibrinógeno, es importante que sea informado.

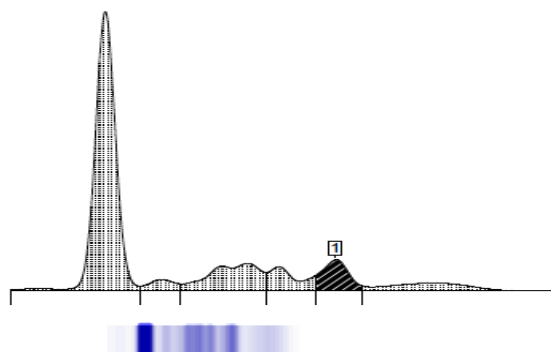


Gráfico 2: Proteinograma por electroforesis con moderada hemólisis y banda homogénea en la zona gamma rápida con sospecha de fibrinógeno.

Anticuerpos monoclonales terapéuticos (daratumumab, elotuzumab, etc.):

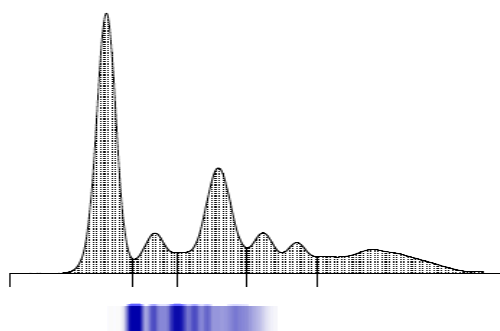
El tratamiento con anticuerpos monoclonales puede generar interferencias en la fracción gamma-globulinas, dependiendo de la dosis y régimen. Es fundamental que el laboratorio conozca si el paciente está bajo este tipo de terapia para evitar interpretaciones erróneas.

Crioglobulinas:

Cuando se realiza electroforesis en frío, puede observarse acumulación en el punto de aplicación que simula un “pico monoclonal”. En pacientes con diagnóstico positivo para crioglobulinas, las muestras deben procesarse a 37 °C para evitar esta interferencia.

Proteína C Reactiva (PCR):

Normalmente está en concentraciones muy bajas y no se observa en electroforesis, pero en inflamación aguda puede superar 100 mg/dl, generando una banda en la región media-gamma que puede confundirse con una proteína monoclonal en geles.



***Gráfico 3:** Proteinograma por electroforesis con presencia de pequeña banda homogénea en zona gamma con sospecha de proteína C reactiva.*

Proteinogramas con patrones electroforéticos característicos

A continuación, se presentan algunos resultados de los proteinogramas obtenidos durante nuestra rotación. Se trata de muestras pertenecientes a pacientes de IBC, las cuales fueron procesadas por nosotros como parte de las actividades prácticas.

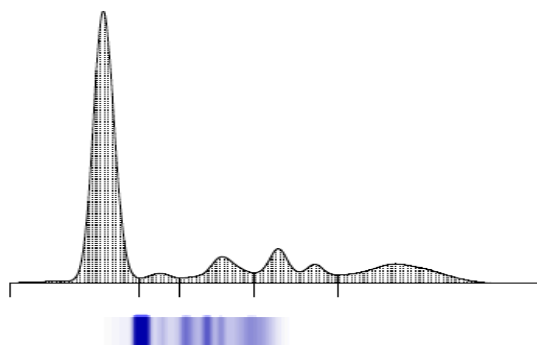


Gráfico 4: Corrimiento electroforético normal.

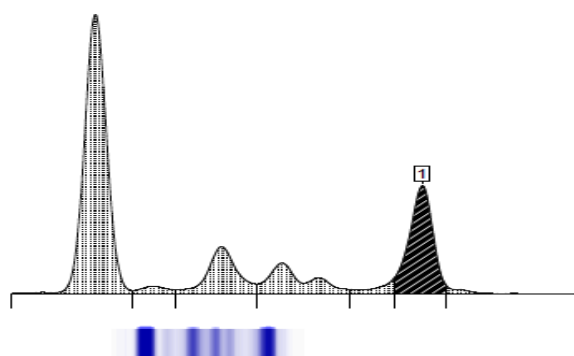


Gráfico 5: Proteinograma por electroforesis con presencia de banda homogénea en zona gamma.

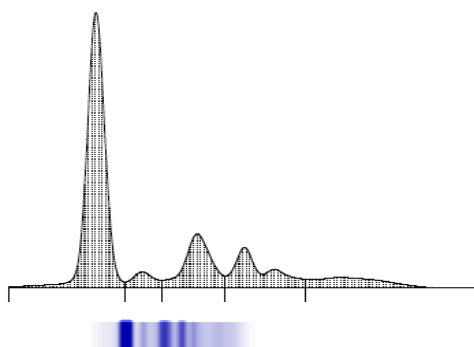


Gráfico 6: Proteinograma por electroforesis con zonas alfa uno y alfa dos reactivas. Zona gamma disminuida.

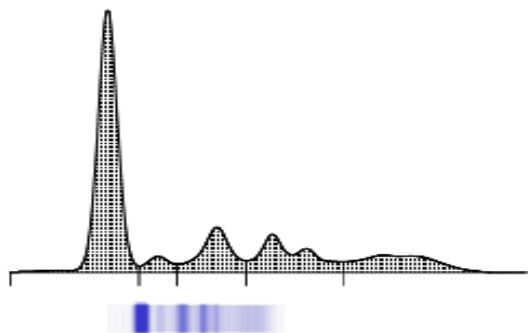


Gráfico 7: *Proteinograma por electroforesis con sospecha de perfil oligoclonal en la región gamma*

Discusión y conclusiones:

En el *gráfico 4* se presenta un histograma junto con la imagen del gel correspondiente a un corrimiento electroforético normal. Se identifican las seis fracciones características y la distribución de las mismas es homogénea y cuantificable, sin presencia de bandas adicionales ni distorsiones, lo que indica un patrón proteico dentro de los parámetros fisiológicos.

En el *gráfico 5* se observa una banda homogénea en la zona gamma, hallazgo característico de una gammapatía monoclonal. La detección de estas alteraciones en suero y orina representa uno de los principales usos clínicos de la electroforesis de proteínas. Los patrones electroforéticos varían según la proliferación neoplásica de linfocitos B (como en leucemia linfocítica crónica) o células plasmáticas (mieloma múltiple). En mieloma, suele observarse una elevación marcada en la región γ -globulina con restricción en la migración, aunque las anomalías pueden localizarse desde la región α hasta la γ -globulina.

En el *gráfico 6* se muestra un ejemplo de un proteinograma característico de la hipogammaglobulinemia; paralelamente se recomienda evaluar las células del sistema inmune de manera fenotípica (cuantificación de poblaciones, estudio de subpoblaciones, estudio de moléculas de adhesión) y funcional (proliferación celular in vitro, medición de IL, desgranulación de células NK, vías de señalización, etc.)

El *gráfico 7* muestra un patrón en la zona gamma compatible con un perfil oligoclonal. En cirrosis hepática, el daño a las células genera vigilancia inmunitaria insuficiente y la derivación hemodinámica portal a sistémica provoca una respuesta

inmunitaria generalizada a endotoxinas y antígenos entéricos, aumentando la producción de IgA e IgG como se aprecia en el patrón observado.

Perspectivas:

En este trabajo se presenta la técnica de electroforesis de proteínas séricas, junto con sus principales aplicaciones diagnósticas. Sin embargo, esta metodología también puede aplicarse al análisis de otras muestras biológicas, como orina y LCR. La electroforesis de proteínas urinarias resulta especialmente útil en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades renales, en la detección de proteínas monoclonales y en la investigación de distintos tipos de proteinuria, como en el caso de las proteínas de Bence Jones.

En pacientes con gammopatías monoclonales, la electroforesis de suero se complementa con la inmunofijación, técnica que permite identificar con precisión las proteínas monoclonales detectadas tanto en suero como en orina. La inmunofijación utiliza el mismo principio y equipamiento que la electroforesis, incorporando una reacción específica con antisueros dirigidos contra inmunoglobulinas.

La electroforesis de proteínas constituye una herramienta esencial en el laboratorio de análisis clínicos, y el rol del bioquímico es central en cada etapa del proceso. Su intervención no solo garantiza la adecuada preparación y manipulación de las muestras, sino que resulta determinante en la interpretación de los resultados. El bioquímico debe estar capacitado para reconocer interferencias preanalíticas, distinguir entre patrones normales y patológicos, y correlacionar los hallazgos con el contexto clínico del paciente.

Como perspectiva a futuro, cabe destacar el desarrollo de la electroforesis capilar en zona (CZE), una tecnología que combina alta resolución, rapidez y sensibilidad, convirtiéndose en una alternativa moderna para el análisis de proteínas séricas. Entre sus principales ventajas se encuentran la mayor capacidad de discriminación de fracciones proteicas, incluso de subfracciones como β_1 y β_2 -globulinas, y la reducción significativa del tiempo de análisis, lo que mejora la eficiencia del laboratorio. No obstante, su implementación presenta algunos desafíos, como el alto costo inicial del equipamiento y ciertas limitaciones en la visualización directa de las bandas, ya que el análisis se basa en curvas de absorbancia.

En el trabajo abordamos las patologías que pudimos observar durante la rotación. Sabemos que el proteinograma también es útil en otras como el síndrome nefrótico y la hepatopatía crónica. Lamentablemente, no pudimos incluirlas por limitaciones en los casos disponibles.

Bibliografía:

Keren, D. F. (2003). *Protein electrophoresis in clinical diagnosis* (1st ed.). London.

<https://doi.org/10.1201/b13302>

SEBIA. (2005). *Especificaciones de uso Hydragel 7 y 15*. <https://goo.su/4XhR37>

Manual Hydrasys LC. (1993). Versión 1.0. <https://goo.su/DZo1zs5>

Arco, L., et al. (2023). Recomendaciones del laboratorio clínico en el estudio de las proteínas séricas a partir del proteinograma electroforético.



EL PROTEINOGRAMA POR ELECTROFORESIS COMO APOYO DIAGNÓSTICO A DIVERSAS PATOLOGÍAS



Godoy, Anahí¹; Rojas, Horacio¹; Ostera, Delia²; Hernández, Malén¹

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

PRESENTACIÓN:

En el Área de Proteínas- Serología del Laboratorio IBC se realizó un estudio descriptivo sobre el proteinograma sérico por electroforesis, enfocándose en sus fases preanalítica y analítica y en su utilidad para la detección y caracterización de alteraciones en las fracciones proteicas.

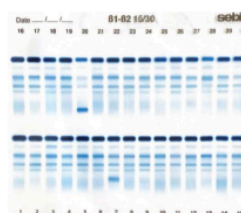
MARCO TEÓRICO:

La electroforesis es una técnica que separa proteínas del suero según su carga eléctrica, siendo fundamental en el diagnóstico clínico. Evolucionó desde métodos en papel hasta geles y sistemas capilares, que ofrecen mayor resolución y precisión. Estas técnicas permiten identificar, cuantificar y caracterizar proteínas, mostrando patrones específicos que ayudan a detectar diversas patologías.

RESULTADOS:

Laboratorio IBC realiza proteinogramas séricos mediante el sistema semiautomatizado Hydrasys (SEBIA), que usa geles Hydragel y el software Phoresis para el análisis. Este equipo automatiza todas las etapas de la electroforesis, mejorando la precisión y eficiencia del proceso, y permite interpretar los perfiles proteicos con resultados estandarizados y confiables.

Los geles permiten separar y cuantificar proteínas séricas mediante electroforesis en agarosa a pH 9,2, con tinción por negro amido. El proceso incluye preparación, migración automática, secado, tinción y análisis digital con el software PHORESIS. Cada gel procesa hasta 30 muestras simultáneamente con alta precisión y eficiencia.



El software detecta automáticamente anomalías, permite agregar comentarios y comparar resultados con patrones de referencia o estudios previos del paciente.

El control de calidad asegura la confiabilidad de los resultados mediante el uso de un suero control valorado en cada corrida. Se evalúa la correcta separación y definición de las fracciones proteicas, y ante cualquier desviación se repite el ensayo, revisando los materiales y registrando el incidente.

Aspectos preanalíticos para la realización del proteinograma:

Tipo de muestra

Suero fresco obtenido por venopunción, en tubo sin anticoagulante.

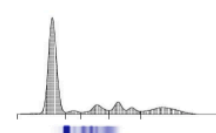
Conservación

Hasta 24 hs a T° ambiente (20-25 °C), hasta 7 días refrigerada (4-8 °C) y hasta 3 semanas congelada (-20 °C).

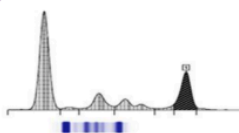
Interferencias

Lipemia, hemólisis, fibrinógeno, Ac monoclonales, crioglobulinas, PCR.

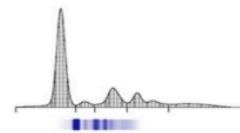
Proteinogramas con patrones electroforéticos característicos:



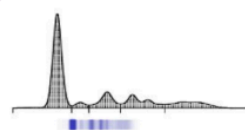
Patrón electroforético normal.



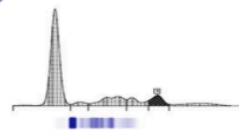
Patrón con presencia de banda homogénea en zona gamma.



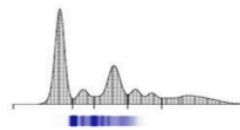
Patrón con zonas alfa uno y alfa dos reactivas. Zona gamma disminuida.



Patrón con sospecha de perfil oligoclonal en la región gamma



Patrón con moderada hemólisis y banda homogénea en la zona gamma rápida con sospecha de fibrinógeno.



Patrón con presencia de pequeña banda homogénea en zona gamma con sospecha de proteína C reactiva.

CONCLUSIONES:

La electroforesis de proteínas constituye una herramienta esencial en el laboratorio de análisis clínicos, y el rol del bioquímico es central en cada etapa del proceso. Su intervención no solo garantiza la adecuada preparación y manipulación de las muestras, sino que resulta determinante en la interpretación de los resultados. El bioquímico debe estar capacitado para reconocer interferencias preanalíticas, distinguir entre patrones normales y patológicos, y correlacionar los hallazgos con el contexto clínico del paciente.

Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas
Trabajo final PPO
2025

Toxoplasmosis cerebral en un paciente HIV no
tratado y en situación de vulnerabilidad social: un
desafío multifactorial

Autora: Bogado Loana

Tutoras: Cerdan, María Celeste, Indelman Paula

Institución de rotación: Hospital Alberdi

PRESENTACIÓN

Paciente de 49 años de edad con antecedentes de HIV sin tratamiento actual, tabaquista de jerarquía y ex adicto a drogas vía intravenosa (ADVI) consulta a guardia externa del hospital Alberdi el día 08/04/2025, por cuadro de 1 semana de evolución, según refiere, caracterizado por hemiparesia braquiocrural izquierda. Niega fiebre, náuseas, vómitos y cefaleas, posee diarrea acuosa de 1 mes de evolución y un dolor abdominal tipo cólico.

Desde la guardia externa le solicita una tomografía axial computarizada (TAC) de cráneo con contraste informando hipodensidad en el lóbulo frontal. Ingresa a sala de clínica médica para diagnóstico, tratamiento y control evolutivo.

Examen físico al ingreso:

Impresión general: regular; estado general- Adelgazado.

Signos vitales: TA: 110/80 FC: 100 FR: 15 T°: 36,2 SATO2: 98% al 0,21

Piel y faneras: Sin particularidades.

Cabeza y cuello: Sin particularidades. No se palpan adenopatías.

Aparato Cardiovascular: R1 R2 normofonéticos; sin R3 Y R4. Sin soplos y ritmo regular. Ingurgitación yugular 2/6 con colapso inspiratorio. Reflujo hepatoyugular negativo.

Considerando que R1, R2, R3 y R4 son los ruidos cardíacos que pueden escucharse durante la auscultación del paciente.

Aparato respiratorio: Murmullo vesicular conservado, sin ruidos agregados. Sin utilización de musculatura accesoria. Buena mecánica ventilatoria.

Abdomen: Excavado, depresible, indoloro, sin defensa ni descompresión. Ruidos hidroaéreos (RHA) positivos, no se palpan visceromegalias. Puño percusión negativa bilateral.

Miembros: forma, tono conservados, hipotrofia. Pulsos presentes y simétricos. Sin edemas.

Examen neurológico: vigil, orientado globalmente. Pupilas isocóricas, reactivas. Movimientos oculares extrínsecos conservados. Resto de pares craneales evaluados y conservados, reflejo deglutorio conservado. Paresi braquial izquierda 3/5 y crural 4/5. Sin signos de irritación meníngea. Reflejos osteotendinosos

presentes y simétricos. Sin signos cerebelosos. Romberg negativo, Nistagmus negativos.

MARCO TEÓRICO

1. EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) es un retrovirus complejo, se agrupa dentro del género Lentivirus de la subfamilia Orthoretrovirinae de la familia Retroviridae.

Se asocian al Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Tiene una amplia clasificación filogenética debido a la gran diversidad y variabilidad nucleotídica que presenta por la elevada tasa de error de la transcriptasa reversa, la capacidad de recombinación, el corto tiempo de replicación genómica y el alto tamaño poblacional (producción de 10^{10} viriones/día).

1.1 CURSO DE LA INFECCIÓN NATURAL POR HIV

Luego de la exposición al HIV, cerca de la mitad de los individuos que se infectan desarrollan un cuadro pseudogripal en las primeras semanas de infección que se conoce como síndrome retroviral agudo y que corresponde a las manifestaciones clínicas de la primoinfección. El primer marcador virológico en aparecer es el ARN-VIH en plasma (viremia) aproximadamente a la semana desde la exposición. Prácticamente al mismo tiempo se puede detectar el ADN-HIV integrado al genoma celular (ADN proviral) en las células mononucleares de sangre periférica, el cual permanecerá detectable de por vida. La etapa crónica de la infección natural se caracteriza por la persistencia de la replicación viral la cual es contrarrestada por la regeneración de los linfocitos T CD4+. La duración de esta fase es altamente variable y depende de un complejo equilibrio entre factores del hospedero y del virus que conduce a diferentes formas y tiempos de progresión de la enfermedad. La mayoría de los pacientes (80-90%) progresan a SIDA en algún momento de la infección. Debido a que no existen manifestaciones clínicas características de la infección del VIH, el diagnóstico certero sólo se puede establecer por técnicas de laboratorio.

1.2 CUANTIFICACIÓN DEL ARN-HIV: CARGA VIRAL PLASMÁTICA (CVP)

La CVP es la cantidad de partículas virales, expresada en número de copias, encontradas por mililitro de sangre (copias/ml) o en log10. La determinación de la CVP permite evaluar el estado de la enfermedad, el riesgo de progresión y la efectividad del tratamiento.

1.3 CUANTIFICACIÓN DE LINFOCITOS CD4+

Los linfocitos T humanos juegan un rol importante en la fisiopatogenia del HIV/SIDA. Se deben distinguir los linfocitos T CD4, que proveen cooperación a otras células del sistema inmune, de los linfocitos T CD8, que median actividad citotóxica. El HIV infecta los linfocitos T CD4 del tejido linfoide asociado a mucosa en la etapa aguda de la infección y provoca la muerte de muchas de las células infectadas. El recuento de los linfocitos T CD4 en sangre periférica se realiza por citometría de flujo y su valor permite estimar el estado inmunológico del paciente infectado por lo que es un parámetro necesario en la atención médica. El número normal de linfocitos T CD4 en un adulto se encuentra en un rango de 800 a 1.050 células/ml y la relación CD4:CD8 es superior a 1, lo que indica un equilibrio inmunológico. El éxito terapéutico inmunológico se establece cuando con el tratamiento se logra un incremento en el recuento de linfocitos T CD4.

1.4 SIDA

Se diagnostica una persona en estadio SIDA cuando posee un conteo de células T CD4+ menor a 200 células/ μ L y/o se encuentre infectado con al menos una enfermedad marcadora de SIDA.

Enfermedades marcadoras: Neumonías bacterianas recurrentes, esofagitis candidiásica, histoplasmosis y coccidioidomicosis diseminadas, cryptococosis, citomegalovirus, toxoplasmosis cerebral, Leishmaniasis atípica diseminada, cryptosporidiosis, cisticercosis, bacteriemia recurrente por *Salmonella spp.*

2. TOXOPLASMOSIS

La toxoplasmosis es una enfermedad parasitaria del hombre y de diversas especies de mamíferos y de aves, producida por un protozoo coccidio, el *Toxoplasma gondii*. En el hombre habitualmente es asintomática y las formas clínicas son variables y dependen del órgano o sistema donde se multiplica de preferencia el parásito. En

pacientes inmunocomprometidos representa una tasa de morbilidad y mortalidad importante.

El *Toxoplasma gondii* es un protozoo del Subphylum Apicomplexa y de la subclase Coccidia. Presenta ciclos de multiplicación sexuada, o esporogónica, en el intestino del gato (hospedador completo) y de otros felinos salvajes, y un ciclo de multiplicación asexual o esquizogónica en los tejidos del ser humano y otros mamíferos (hospedadores incompletos).

2.1 EPIDEMIOLOGÍA

La infección del ser humano por *T.gondii* está muy difundida, sin embargo, las manifestaciones graves se dan en los pacientes inmunocomprometidos. La infección puede adquirirse a partir de la ingesta de quistes u ooquistes de *T.gondii* que se encuentren en las manos, alimentos o aguas contaminadas con heces de gatos, aunque también un posible contagio sea por el uso compartido de jeringas entre los consumidores de drogas por vía intravenosa.

La toxoplasmosis presenta una morbimortalidad relativamente baja en pacientes inmunocompetentes. La importancia y gravedad de la parasitosis, radica en el contagio transplacentario y en los individuos inmunocomprometidos o con enfermedades debilitantes.

Aunque la tasa de seroconversión es similar entre los individuos, la frecuencia de enfermedad grave varía en función del estado inmunitario de cada persona. La infección diseminada y la afectación del sistema nervioso central (SNC) son mucho más frecuentes en pacientes con defectos en la inmunidad celular, especialmente los infectados con HIV.

2.2 SÍNTOMAS CLÍNICOS.

La mayoría de las primoinfecciones por *T. gondii* son benignas y asintomáticas, los síntomas sólo aparecen cuando los parásitos pasan de la sangre a los tejidos, donde se convierten en formas intracelulares. En caso de cursar una enfermedad sintomática, la infección se caracteriza por destrucción celular, multiplicación de los microorganismos, y en última instancia, formación de quistes. Puede afectar a muchos tejidos diferentes, sin embargo, el microorganismo muestra un tropismo particular por las células del pulmón, corazón, los órganos linfoides y el SNC, incluido el ojo. Superada las fases activas, la infección persiste durante toda la vida.

La toxoplasmosis crónica no siempre permanece latente. En el hombre, son posibles las reactivaciones debidas a la ruptura de los quistes. Estos fenómenos pueden quedar limitados al mismo tejido o pueden ocasionar una reactivación generalizada. En individuos inmunodeprimidos las reactivaciones suelen ser de índole neurológica, produciendo encefalitis. La enfermedad suele ser multifocal, con aparición de más de una lesión cerebral al mismo tiempo. Los síntomas guardan relación con la localización de las lesiones y pueden consistir en hemiparesia, convulsiones, trastornos visuales, confusión y letargo.

Estas reactivaciones se deben a que los linfocitos T (tanto CD4+ como CD8+), que son esenciales en la protección contra este parásito, en estos pacientes se encuentran disminuidos.

El diagnóstico de encefalitis por *Toxoplasma gondii* generalmente precisa de una tomografía computarizada o una resonancia magnética. Pero para alcanzar un diagnóstico definitivo se deben utilizar técnicas microscópicas, serológicas y moleculares.

El tratamiento consta de un régimen inicial de trimetoprima- sulfametoxazol (TMS) a altas dosis y posteriormente se continúa con dosis más bajas por un período indefinido.

RESULTADOS

ESTADO ÁCIDO- BASE AL INGRESO: *Alcalosis respiratoria*

PH: **7.49** PO2: 97.6 PCO2: **28.5** SAT: 98.1 HCO3: **21.2** EXCESO DE BASE: -1.6

-LABORATORIO BÁSICO

FECHA	8/4	9/4	11/4	14/4	22/4	25/4	30/4	5/5
GB (10 ³ cel/mm3)	4.46	3.18	4.58	4.18	3.96	5.10	5.74	5.43
HTO (%)	30.8	26.2	22.5	28.5	26.5	25.5	20.1	20.9
HB (g/l)	9.8	8.4	7.4	9.6	8.6	8.2	6.4	6.8
VCM (fl)	82	83	82	80	82	84	88	90
HCM (pg)	26.3	26.7	27.1	27	26.8	27.2	28.2	29.3

VES (mm/h)	82			47		95	>120	
GLICEMIA (mg/dl)	118	113	247	76	87	84	104	99
UREA (mg/dl)	12	24	10	10	15	17	29	27
CREATINI NA (mg/dl)	0.58	0.66	0.55	0.59	1.14	0.90	0.77	0.66
Na K Cl (meq/l)	131 3 95	134 3.3 102	124 3.6 99	126 4.7 94	123 5 88	124 4.2 90	123 4.2 93	128 4.2 96
PCR (mg/l)	55.4	90.5	88.6			20.2	61	

Tabla 1 determinaciones de laboratorio.

Nota: los valores resaltados en rojo corresponden a resultados fuera del rango de referencia.

-LABORATORIO PERFIL HEPÁTICO

FECHA	8/4	9/4	11/4	14/4	22/ 4	25/4	30/4
GOT (U/l)	34		22	41	84	50	33
GPT (U/l)	20		11	26	83	69	41
FAL (U/L)	451		329	493	463	380	326
GGT (U/L)	58		36	50	65	55	42
PROT T ALBÚMINA GLOBULINAS (g/dl)		6.4 2.5 3.9					

Tabla 2 determinaciones de laboratorio.

Nota: los valores resaltados en rojo corresponden a resultados fuera del rango de referencia.

-OTRAS DETERMINACIONES DE LABORATORIO

FECHA	8/4	9/4	23/4
Ca (mg/dl) P (mg/dl) Mg (mg/dl)	8.3 3.2 1.8		
TIBC (µg/dl) % Sat (%) Sideremia (µg/dl)		141 12 17	
Ferritina (ng/ml)		755	

Tabla 3 determinaciones de laboratorio.

Nota: los valores resaltados en rojo corresponden a resultados fuera del rango de referencia.

Estudios complementarios:

TAC DE CRÁNEO CON CONTRASTE: Hipodensidad de la sustancia blanca en lóbulo frontal y adyacente al asta anterior del ventrículo lateral derecho. Resto normal. No se observan refuerzos patológicos sobre la administración de contraste.

Rx Tórax: sin particularidades.

ECG: Se observa patrón de bloqueo completo de rama derecha, sin signos de isquemia o necrosis.

ECOCARDIOGRAMA DOPPLER y ECODOPPLER VASOS DE CUELLO: sin particularidades.

RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR CON CONTRASTE (21/4/35): Se observaron varias lesiones ocupantes de espacio, intraxiales, en el parénquima encefálico. Tamaño osciló entre 7.8mm en la región del ganglio basal derecho y de 14mm en la región frontal-parasagital derecha.

Conclusión: estudio compatible con lesiones de posible origen infeccioso, en primera instancia asociado a toxoplasmosis en región frontal parasagital derecha alta.

MICROBIOLOGÍA:

9/4/2025:

Coprocultivo: *Shigella*.

Leucocitos en Materia Fecal: abundantes

Parasitológico: Ooquistes de *Cryptosporidium spp*

V.D.R.L: NO REACTIVO

TOXOPLASMOSIS: Ac. IgG: 152.1 UI/ml VR: ≥ 3.0 UI/ml: REACTIVO

Ac. IgM: menor a 0.1 UI/ml VR: < 0.5 UI/ml: NO REACTIVO

HEPATITIS B (HBsAg): NO REACTIVO

HEPATITIS C (Ac): REACTIVO

SUBPOBLACIÓN LINFOCITARIA CD8:

LINFOCITOS CD8: 62,9% LINFOCITOS CD8 total: 213 cel/ul

SUBPOBLACIÓN LINFOCITARIA CD4

LINFOCITOS CD4: 7.4% LINFOCITOS CD4 TOTALES: 25 cel/ul

CARGA VIRAL HIV: 1.140.000 copias/ml

03/05/25:

Hemocultivos X2: Negativos

Urocultivo: Negativo

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Paciente de 49 años de edad con antecedentes VIH sin tratamiento, cursó 31 días de internación en el Hospital Alberdi por un cuadro interpretado como toxoplasmosis cerebral por lo que a su ingreso se le solicitan laboratorios de control, anticuerpos IgG e IgM para Toxoplasmosis y un RMN cerebral.

En los pacientes con SIDA, la toxoplasmosis es una de las infecciones oportunistas más frecuentes, y suele ser mortal. Se ha reportado que el 30% de esos pacientes están infectados con *T. gondii* desarrollan una encefalitis si no se trata adecuadamente. La toxoplasmosis en el inmunodeprimido generalmente es consecuencia de la reactivación endógena de una infección pasada.

Al realizarse la RMN se orientó el diagnóstico de toxoplasmosis por lo cual se comenzó el tratamiento con TMS el día 29/4 con buena respuesta terapéutica.

Además, el paciente presentó un cuadro de diarrea acuosa no disenteriforme de más de 30 días de evolución. En este contexto se le solicitó estudios coprológicos completos para paciente HIV que incluyó: examen microscópico con búsqueda de leucocitos en materia fecal, siendo este abundante, coprocultivo y parasitológico enfocado en microorganismos frecuentes en pacientes HIV. También se evaluó la presencia de toxinas B para *Clostridium difficile*, resultando negativo.

En el coprocultivo se aisló *Shigella*, y del parasitológico *Cryptosporidium spp.*, un parásito oportunista muy común en pacientes con inmunosupresión avanzada.

Para evaluar el estadio inmunológico del paciente, se realizó un recuento de CD4/CD8 y la carga viral, además de un panel completo de serologías. Los resultados confirmaron que el paciente se encontraba en estadio SIDA (CD4 <200 cel/ml) y revelaron una coinfección por el Virus de hepatitis C, probablemente asociada al uso de drogas por vía intravenosas.

El HIV sin tratamiento previo, combinado con un bajo recuento de CD4, predispuso al paciente a múltiples infecciones oportunistas, lo que explica la persistencia y complejidad del cuadro clínico.

El día 24/4, luego de obtener los resultados de subpoblación linfocitaria y carga viral, comenzó el tratamiento con antirretrovirales y profilaxis con Azitromicina 1 gr semanal para micobacterias atípicas.

El día 5/5/2025 se solicita tomografía de cráneo con contraste para un control de la evolución de toxoplasmosis cerebral, el paciente se niega a realizarse la misma y el mismo día a las 18:50 se da a la fuga sin alta médica.

El paciente es citado el día 9/5 para buscar la epicrisis y la medicación indicada para continuar con el tratamiento médico. Se le asigna turno con la infectología para el día 15/5.

El paciente acude al turno, en la consulta se deja la misma medicación de profilaxis, comienza el tratamiento con antirretrovirales y se le indica tomografía de control. La próxima consulta estaba estipulada para el día 16/6, no obstante, el paciente no acudió.

Hasta el día de la fecha no se obtiene más información del paciente.

PERSPECTIVA

El presente caso refleja de manera clara y preocupante la complejidad del abordaje de pacientes en situación de vulnerabilidad social, como lo es una persona en situación de calle con VIH avanzado sin tratamiento.

La falta de acceso sostenida a la salud, la escasa adherencia terapéutica, la ausencia de educación sanitaria básica y el contexto socioeconómico adverso

constituyen factores que atentan contra la continuidad de cualquier estrategia médica, por más efectiva que sea en términos farmacológicos o clínicos.

El paciente presentó una patología oportunista prevenible, como la toxoplasmosis cerebral, resultado de una inmunodepresión severa, evitable con un diagnóstico precoz y un tratamiento antirretroviral sostenido. A pesar de la intervención hospitalaria prolongada, la fuga del paciente sin alta médica interrumpió el seguimiento, comprometiendo su recuperación.

Estas situaciones resaltan la importancia de abordar la salud de manera integral, considerando no solo el aspecto clínico, sino también las condiciones sociales que rodean al paciente. Factores como el acceso a una vivienda adecuada, la salud mental, la contención familiar y comunitaria, y el acompañamiento sostenido son fundamentales para lograr una atención eficiente y mejorar la adherencia a los tratamientos.

De no abordarse estos aspectos de manera interdisciplinaria e intersectorial, los esfuerzos del sistema sanitario no solo se verán desaprovechados, sino que perpetúan un ciclo de atención fragmentada, altos costos evitables y resultados clínicos pobres.

Es imprescindible replantearse los modelos de atención para que estos pacientes no solo accedan a la salud, sino que puedan sostenerla, puesto que sin una contención real un estado de bienestar integral se vuelve inalcanzable.

BIBLIOGRAFÍA

1. Giri Adriana, Cavatorta Ana Laura, Taborda Miguel, Marano María Rosa. (2024) Material correspondiente a los trabajos prácticos del Área Virología, Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FCByF) de la Universidad Nacional de Rosario (UNR).
2. Lopera María Monica, Lemos Yesly (marzo 2019). Factores socioeconómicos y clínicos asociados con infecciones oportunistas en pacientes con HIV afiliados al sistema de salud. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572019000100186&script=sci_arttext
3. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michaela A. Pfaller. (2021) Microbiología médica. (edición 9). Sección parasitología (pp 938-963)
4. Antonio Atias. (1996). Parasitología clínica (edición tercera). Toxoplasmosis (pp 269-282)
5. Anabella Erviti Anabella, Poggio Juan Manuel. (2023). Sociedad Argentina de Infectología-SADI. Recomendaciones de diagnóstico y tratamiento de infecciones oportunistas en población con VIH / 1a ed adaptada. (pp 193-200) - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Sociedad. Argentina de Infectología.
6. Velasco Arribas María, Torralba González de Suso Miguel (2022). Documento de Prevención y Tratamiento de Infecciones Oportunistas y otras Coinfecciones en Pacientes con Infección por VIH. Infecciones por parásitos (pp 11-14)
7. Leonora Eugenia Kozubsky y María Elena Costas (coordinadoras) (2023). Parasitología humana para bioquímicos Parasitosis hísticas y hemáticas. FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS. (Cap. 14)



"Toxoplasmosis cerebral en un paciente HIV no tratado y en situación de vulnerabilidad social: un desafío multifactorial"

Loana Bogado¹; Guelli Gabriela²; Parodi Pedro³; Ross Elena³; Indelman Paula³; M. Celeste Cerdan³

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR; ²Hospital Juan B. Justo, Municipalidad de Rosario; ³Neu Parasitología, Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.



Introducción

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 es resultado directo de sus efectos sobre las células inmunes, e indirecto debido al estado generalizado de inflamación. Como consecuencia, las personas infectadas con HIV tienen mayor riesgo de desarrollar diversas enfermedades oportunistas, por ejemplo toxoplasmosis cerebral y criptosporidiosis. La infección del ser humano por *Toxoplasma gondii* está muy difundida, sin embargo las manifestaciones graves se dan en los pacientes inmunocomprometidos. La toxoplasmosis crónica no siempre permanece latente, las reactivaciones a menudo son debidas a la ruptura de los quistes. En individuos inmunodeprimidos las reactivaciones suelen ser de índole neurológica, produciendo hemiparesia, convulsiones, trastornos visuales, confusión y letargo. El diagnóstico de encefalitis por *T.gondii* generalmente precisa de una tomografía computarizada, y para el diagnóstico definitivo se utilizan técnicas microscópicas, serológicas y moleculares.

Caso clínico

Paciente de 49 años de edad con antecedentes de HIV sin tratamiento actual, tabaquista de jerarquía y ex adicto a drogas vía intravenosa (ADVI) consulta a guardia externa del Hospital Alberti el día 08/04/2025, por cuadro de 1 semana de evolución, según refiere, caracterizado por hemiparesia braquiocrural. Niega fiebre, náuseas, vómitos y cefaleas, posee diarrea acuosa de 1 mes de evolución y un dolor abdominal tipo cólico. Desde la guardia externa se le solicita una tomografía axial computarizada (TAC) de cráneo con contraste informando hipodensidad en el lóbulo frontal. Ingresó a sala de clínica médica para diagnóstico, tratamiento y control evolutivo.

Examen neurológico: regular; estado general: Adelgazado.

Examen neurológico: vigil, orientado globalmente. Paresia braquial izquierda 3/5 y crural 4/5.

Resultados

ESTADO ÁCIDO-BASE AL INGRESO: Alcalosis respiratoria
PH: 7.49 PCO₂: 97.6 PCO₂: 28.5 SAT: 98.1 HCO₃: 21.2 EXCESO DE BASE: -1.6

LABORATORIO BÁSICO

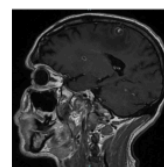
Fecha	8/4	9/4	11/4	14/4	22/4	25/4	30/4	5/5
GB (10 ³ cel/mm ³)	4.46	3.18	4.58	4.18	3.96	5.10	5.74	5.43
HTO (%)	30.8	26.2	22.5	28.5	26.5	25.5	20.1	20.9
HB (g/l)	9.8	8.4	7.4	9.6	8.6	8.2	6.4	6.8
VCM (fl)	82	83	82	80	82	84	88	90
HCM (pg)	26.3	26.7	27.1	27	26.8	27.2	28.2	29.3
VES (mm/h)	82		47		95		>120	
GLICEMIA (mg/dl)	118	113	247	76	87	84	104	99
UREA (mg/dl)	12	24	10	10	15	17	29	27
CREATININA (mg/dl)	0.58	0.66	0.55	0.59	1.14	0.90	0.77	0.66
Na	131	134	124	126	123	124	123	128
K	3	3.3	3.6	4.7	5	4.2	4.2	4.2
Cl	95	102	99	94	88	90	93	96
PCR (mg/l)	55.4	90.5	88.6		20.2	61		

Tabla 1 determinaciones de laboratorio.
Nota: los valores resaltados en rojo corresponden a resultados fuera del rango de referencia

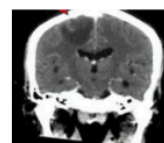
LABORATORIO PERFIL HEPÁTICO

FECHA	8/4	9/4	11/4	14/4	22/4	25/4	30/4
GOT (U/l)	34	22	41	84	50	33	
GPT (U/l)	20	11	26	83	69	41	
FAL (U/l)	451	329	493	463	380	326	
GOT (U/l)	58	36	50	65	55	42	
PROT T (g/dl)	6.4						
ALBUMINA (g/dl)	2.5						
GLOBULINAS (g/dl)	3.9						

Tabla 2: determinaciones de laboratorio.
Nota: los valores resaltados en rojo corresponden a resultados fuera del rango de referencia



Resonancia Magnética Nuclear (RMN) con contraste. Se observan lesiones con realce en anillo y edema perilesional. Lesiones de posible origen infeccioso.



Tomografía axial computarizada (TAC). Se observa imagen hipodensa sin realce en lóbulo parietal.

MICROBIOLOGÍA

9/4/2025:
Coprocultivo: Shigella.
Leucocitos en Materia Fecal: abundantes
Parasitológico: Oquistes de *Cryptosporidium* spp
HEPATITIS B (Ac): REACTIVO
V.D.R.L.: NO REACTIVO
HEPATITIS B (HBeAg): NO REACTIVO

TOXOPLASMOSIS: Ac. IgG: 152.1 UI/ml VR: ≥3.0 UI/ml: REACTIVO
Ac. IgM: menor a 0.1 UI/ml VR: <0.5 UI/ml: NO REACTIVO
SUBPOBLACIÓN LINFOCITARIA CD4:
LINFOCITOS CD8: 62.5%
LINFOCITOS CD8 total: 213 célul
SUBPOBLACIÓN LINFOCITARIA CD4:
LINFOCITOS CD4: 7.4% LINFOCITOS CD4 TOTALES: 25 célul
CARGA VIRAL HIV: 1.140.000 copias/ml

Conclusiones

El presente caso refleja de manera clara y preocupante la complejidad del abordaje de pacientes en situación de vulnerabilidad social, como lo es una persona en situación de calle con HIV avanzado sin tratamiento. La falta de acceso sostenido a la salud, la escasa adherencia terapéutica, la ausencia de educación sanitaria básica y el contexto socioeconómico adverso constituyen factores que alertan contra la continuidad de cualquier estrategia médica, por más efectiva que sea en términos farmacológicos o clínicos. El paciente presentó una patología oportunista prevenible, como la toxoplasmosis cerebral, resultado de una inmunodepresión severa, evitable con un diagnóstico precoz y un tratamiento antitremotrovi sostenido. A pesar de la intervención hospitalaria prolongada, la fuga del paciente sin alta médica interrumpió el seguimiento, comprometiendo su recuperación. Estas situaciones resaltan la importancia de abordar la salud de manera integral, considerando no solo el aspecto clínico, sino también las condiciones sociales que rodean al paciente. Factores como el acceso a una vivienda adecuada, la salud mental, la contención familiar y comunitaria, y el acompañamiento sostenido son fundamentales para lograr una atención eficiente y mejorar la adherencia a los tratamientos. De no abordarse estos aspectos de manera interdisciplinaria e intersetorial, los esfuerzos del sistema sanitario no solo se verán desaprovechados, sino que perpetúan un ciclo de atención fragmentada, altos costos evitables y resultados clínicos pobres. Es imprescindible replantearse los modelos de atención para que estos pacientes no solo accedan a la salud, sino que puedan sostenerla, puesto que sin una contención real un estado de bienestar integral se vuelve inalcanzable.

Impacto del abuso de esteroides anabólicos androgénicos sobre la salud reproductiva masculina

Autora: Forti Renata

Tutor académico: Dra. Munuce María José

Tutor de laboratorio: Bioq. Especialista Paparella Cecilia

Institución: Laboratorio de Medicina Reproductiva, Unidad de Reproducción Humana
Medicamente Asistida, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas.

1. PRESENTACIÓN:

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el impacto del abuso de esteroides anabólicos androgénicos (EAA) en la salud sexual y reproductiva masculina. Los esteroides anabólicos son derivados sintéticos de la testosterona (T) y desempeñan un papel fundamental en el manejo de afecciones como el hipogonadismo primario, el retraso de la pubertad masculina, el hipogonadismo hipogonadotrópico e idiopático, el síndrome de Kallman, la deficiencia de la hormona liberadora de hormona luteinizante y la disfunción del eje hipotálamo-hipofisario. A pesar de sus beneficios terapéuticos, los EAA se usan con frecuencia de forma indebida debido a su capacidad para aumentar el tamaño y la fuerza muscular, y mejorar el rendimiento, lo que puede provocar efectos adversos significativos y riesgos para la salud a largo plazo. Cabe destacar que la mayoría de los usuarios de EAA adquieren estas sustancias a través del mercado paralelo ilegal, que no tiene los estándares de control proporcionados por la industria farmacéutica.

2. MARCO TEÓRICO:

2.1 Mecanismo fisiológico del eje Hipotálamo – Hipófisis – Gónada (HPG)

La T es el andrógeno más importante del cuerpo humano. Sus efectos son evidentes durante la pubertad, promoviendo el desarrollo de características sexuales secundarias masculinas, como el crecimiento del vello, la actividad de las glándulas sebáceas, la libido y la maduración espermática. A nivel metabólico, puede unirse directamente al receptor androgénico (AR), convertirse en dihidrotestosterona (DHT) o aromatizarse a estradiol (E_2). Tanto T como DHT pueden circular en plasma en forma libre (2-3%), unida a albumina (50-60%) o unida a globulina transportadora de hormonas (SHBG) en un 40%.

La producción testicular de T está regulada por el eje HPG. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH por sus siglas en inglés) de forma pulsátil, la cual estimula a la hipófisis anterior para secretar hormona luteinizante (LH) y hormona folículo-estimulante (FSH). La LH actúa sobre las células de Leydig, promoviendo la producción de T, mientras que la FSH actúa sobre las células de Sertoli, esenciales para la espermatogénesis.

Diagrama de la regulación hormonal del sistema reproductivo masculino:

- HIPOTÁLAMO** libera **LH** y **FSH** a la **HIPÓFISIS ANTERIOR**.
- HIPÓFISIS ANTERIOR** libera **LH** y **FSH** a los **Receptores** de la **Célula de Leydig** y la **Célula de Sertoli** en el **TESTÍCULO**.
- Célula de Leydig** produce **TESTOSTERONA**, que se convierte en **E₂** (Estradiol).
- Célula de Sertoli** produce **ABP**, que se convierte en **ABP-5αDHT**, que a su vez produce **Espermatozoide** e **Inhibina**.
- TESTOSTERONA** y **E₂** actúan sobre los **ÓRGANOS DIANA**.
- Inhibina** actúa sobre la **Célula de Sertoli**.
- Retroalimentación negativa**: **TESTOSTERONA** y **E₂** actúan sobre el **HIPOTÁLAMO** y la **HIPÓFISIS ANTERIOR**; **Inhibina** actúa sobre la **HIPÓFISIS ANTERIOR**.
- Factores adicionales**: **Noradrenalina y prostaglandinas** (+) y **Dopamina y endorfinas** (-) actúan sobre el **HIPOTÁLAMO**.

2.2 Esteroides anabólicos androgénicos: definición y uso abusivo

339

Actualmente existe una amplia gama de derivados sintéticos de la T, que pueden clasificarse según sus efectos principales, como 1) efecto similar al de la T (p. ej., cipionato y undecanoato), 2) efecto similar al de la DHT (p. ej., estanozolol y oxandrolona) y 3) efecto similar al de la nandrolona (p. ej., trembolona y decanoato de nandrolona).

Datos recientes sugieren que el usuario promedio actual de EAA por razones no médicas no autorizadas, tiene un alto nivel educativo, es de raza blanca, tiene ingresos superiores a la media, tiene aproximadamente 30 años y no practica deportes. Usan esteroides anabólicos para "sentirse mejor" y aumentar la masa muscular. Existe una incidencia aún mayor de abuso de EAA entre levantadores de pesas, culturistas, militares en servicio activo, agentes del orden, competiciones de strongman, practicantes de artes marciales (especialmente kickboxing y artes marciales mixtas) y población carcelaria.

Los EAA se administran comúnmente por vía intramuscular u oral. En las formulaciones inyectables, los EAA se disuelven en aceites vegetales (como el de maní), y suelen incluir excipientes como alcohol bencílico o benzoato de bencilo por sus propiedades bacteriostáticas y su capacidad para mejorar la solubilidad lipídica. Tras la inyección, se forma un depósito oleoso intramuscular, desde donde se difunde lentamente hacia el líquido intersticial. Se suelen combinar diferentes agentes tanto orales como inyectables autoadministrados en altas dosis durante "ciclos" que tienen una duración de 1 a 4 meses aproximadamente. Este consumo cíclico de EAA consiste en la toma de varias dosis en periodos de tiempo concretos, seguidos de un tiempo de descanso en el que se suspende el consumo de EAA para recuperar el equilibrio hormonal natural y disminuir los efectos secundarios debido a la sobrecarga de andrógenos. Dado que la fuerza y la masa muscular disminuyen después de la interrupción de EAA, son necesarios ciclos múltiples para mantener o aumentar aún más la masa muscular ganada.

2.3 Supresión de la espermatogénesis por EAA

El abuso de EAA interfiere en el eje HPG, ya que los EAA exógenos suprimen la producción de GnRH, LH y FSH, lo que conlleva una disminución de la T endógena y de la espermatogénesis. A pesar de que la T es el mediador primario del efecto de LH sobre la espermatogénesis, la administración exógena de T no puede apoyar la

espermatogénesis. Los niveles de T intratesticular (ITT) son aproximadamente 50 a 100 veces más altos que en la circulación y la administración exógena los suprime severamente a niveles que son incapaces de apoyar la espermatogénesis.

La supresión del eje puede persistir incluso tras el cese del uso, debido a la liberación prolongada de EAA esterificados, alteraciones en SHBG, uso encubierto continuado o hipogonadismo inducido por EAA.

2.3.1 Efectos sobre parámetros seminales

Distintos autores muestran, al evaluar los parámetros espermáticos, una reducción del recuento total y relativo de espermatozoides y de las formas normales en sujetos que abusaron de EAA, en comparación con los controles.

En otro estudio sobre parámetros espermáticos, se concluyó que de acuerdo con la duración del uso de EAA y el período desde la última administración del fármaco antes de la encuesta, se redujeron significativamente los porcentajes de espermatozoides móviles y de forma normal entre los culturistas en comparación con los voluntarios sanos.

En un estudio observacional transversal reciente de Shankara-Narayana y colegas se analizaron un total de 72 hombres: 41 usuarios actuales y 31 usuarios anteriores de EAA. Del análisis de la cohorte de usuarios anteriores de EAA (tiempo medio desde el último uso: 300 días), no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los parámetros hormonales y seminales en comparación con los de los no usuarios sanos, lo que sugiere una recuperación completa de la función reproductiva después del cese de EAA. Se demostró que la recuperación de la concentración de espermatozoides después del cese de EAA tomó una media de 10,4 meses con un período de recuperación más largo para los biomarcadores hormonales de la espermatogénesis (FSH: 19 meses; inhibina B sérica: 31 meses). También se concluyó que una mayor duración del uso de EAA se asoció con una recuperación más lenta de la concentración y la motilidad de los espermatozoides.

2.3.2 Alteraciones del ADN espermático

Recientemente se ha informado en usuarios de EAA, ausencia de correlación entre abuso de EAA y cambios ultraestructurales evaluados: la inmadurez, la necrosis y apoptosis. En contraste con estos hallazgos, el análisis de espermatozoides

mediante FISH reveló disomías XY y de los cromosomas 1 y 9, lo que sugiere anomalías en el proceso meiótico y daño genético en usuarios de EAA.

2.3.3 Apoptosis

La apoptosis desempeña un papel importante en la regulación de las poblaciones de células germinales en el testículo adulto. Recientemente, se ha evaluado experimentalmente en modelos animales la correlación entre la apoptosis, las dosis altas de EAA y el ejercicio. Shokri y colaboradores informan de un aumento significativo en la tasa de apoptosis de las células espermatogénicas tras la administración de nandrolona, un aumento claramente amplificado por el ejercicio físico.

2.4 Otros efectos reproductivos asociados

2.4.1. Atrofia testicular

La supresión de la espermatogénesis conduce a la atrofia testicular, que es principalmente un problema cosmético, aunque algunos hombres posteriormente se quejan de testículos retráctiles. El compartimento del túbulo seminífero del testículo, que alberga la espermatogénesis, ocupa alrededor de dos tercios de su volumen. Una fracción considerable de este compartimento consiste en espermatozoides en desarrollo. En consecuencia, la detención de la espermatogénesis resulta en atrofia testicular y reduce el volumen testicular en un 16,5–30,0%.

2.4.2 Ginecomastia

La ginecomastia es el agrandamiento benigno del tejido glandular de la mama. La causa raíz de la ginecomastia es hormonal, resultante de un desequilibrio de la acción androgénica y estrogénica en el tejido mamario. La T exógena es convertida en estradiol por la actividad de la enzima aromatasa.

2.5 Potencial carcinogénico de los EAA

Aunque el mecanismo exacto de genotoxicidad de los EAA no se comprende completamente, estudios como el de Torres-Bugarín y colaboradores sugieren que la combinación de factores genéticos y epigenéticos es responsable de su toxicidad, mutagenicidad, genotoxicidad y potencial carcinogénico.

Durante su catabolismo, los EAA presentan un rol oxidativo al aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno. Estas moléculas altamente inestables pueden formar enlaces covalentes con bases del ADN, generando daño genético

directo. Este mecanismo se ha vinculado con alteraciones hepáticas, debido a su interferencia con el metabolismo de la bilirrubina y la proliferación vascular y celular.

En modelos animales, la exposición a dosis elevadas de nandrolona, por ejemplo, ha demostrado inducir daño en el ADN de múltiples tejidos (incluyendo sangre, hígado, médula ósea, cerebro y testículos). Además, los EAA pueden provocar modificaciones en la secuencia genética a través de la alteración de la actividad de la telomerasa, lo que implica un riesgo potencial para la inestabilidad cromosómica y el desarrollo de cáncer.

2.6 Evaluación clínica del paciente usuario de EAA. Laboratorio.

Ante la sospecha o confirmación de abuso de EAA, se debe realizar una historia clínica detallada y un examen físico. La evaluación debe incluir síntomas de hipogonadismo, estado mental y características físicas como atrofia testicular, acné, ginecomastia o alopecia. Conocer la duración y los tipos de EAA utilizados puede orientar el pronóstico de recuperación. Se deben realizar análisis séricos basales considerando los posibles efectos adversos. En la *Tabla 1* se muestra el patrón típico de un usuario de EAA y tras su recuperación, lo que sugiere la posibilidad de reversión.

El estímulo androgénico sobre la médula ósea produce policitemia o eritrocitosis, lo que eleva el riesgo trombótico. En cuanto al perfil lipídico vemos que el HDL-colesterol disminuye, lo que favorece riesgo cardiovascular, y LDL-colesterol puede aumentar. La elevación de transaminasas puede indicar hepatotoxicidad leve o transitoria. El E₂ suele estar elevado por la aromatización de T exógena.

Análisis de sangre	Cambios durante el abuso de andrógenos	Cambios después del abuso de andrógenos
Testosterona total	↑ / ↓	↓ / ↔
FSH	↓	↔
LH	↓	↔
Estradiol	↑ / ↔	↔
SHBG	↓	↓ / ↔
Hemoglobina	↑	↔
Hematocrito	↑	↔
LDL colesterol	↑ / ↔	↔
HDL colesterol	↓	↔
ALT	↑ / ↔	↔

Tabla 1. Cambios en los análisis de sangre durante y después del abuso de andrógenos. Abreviaciones: ALT, alanina aminotransferasa; HDL lipoproteína de alta densidad; LDL, lipoproteína de baja densidad.

2.7 Estrategias terapéuticas y recuperación de la fertilidad

2.7.1 Hipogonadismo reversible inducido por EAA

Según la mayoría de los informes, la calidad seminal tiende a normalizarse espontáneamente dentro de los 4 a 12 meses posteriores al cese del abuso de EAA. Sin embargo, el efecto negativo en la calidad del esperma puede persistir durante largos períodos. Simplemente suspender el uso de EAA puede llevar a la reanudación de la fertilidad en una cierta proporción de usuarios masculinos, como se observa *Tabla 1*.

Aunque se conocen los efectos adversos del abuso de EAA sobre la fertilidad y la sexualidad masculina, aún se presta poca atención a las estrategias terapéuticas. Un grupo australiano propuso una guía de exámenes según el tipo y momento de uso de EAA. Por ejemplo, el análisis de sangre neuroendocrino (T, LH, FSH, SHBG, IGF-1, TSH y PSA) es más útil alrededor de 3 meses después del cese del uso de EAA, cuando los niveles hormonales podrían alterarse considerablemente. Además, es preferible realizar un análisis de semen después de 6 meses de suspender los EAA, ya que la espermatogénesis tarda más en mostrar signos de recuperación.

En combinación con estrategias de reducción de daños, algunos enfoques farmacológicos podrían restaurar potencialmente la fertilidad masculina y la función sexual en usuarios de EAA. Hay algunos fármacos probados con resultados positivos, como los moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM; p. ej., citrato de clomifeno y tamoxifeno), los agonistas del receptor de LH (p. ej., hCG y LH recombinante), la hMG, la FSH recombinante y los inhibidores de la aromatasa. Además, uno de los objetivos del tratamiento médico debe apuntar a restaurar la función testicular caracterizada por una mejora en la calidad del esperma y la producción hormonal intrínseca.

2.8 Análisis de datos provenientes de un Laboratorio de Referencia LAR, Córdoba, dirigido por la Dra. Rosa Molina

Se analizaron dos grupos de pacientes en función de la entrevista en el laboratorio para realizar el análisis seminal; A: refirieron haber consumido EAA en el pasado y abandonaron el consumo entre 6 meses y 4 años. Y B: que están actualmente consumiendo EAA.

Metodología

El análisis seminal se realizó de acuerdo con los lineamientos descritos en el Manual de la OMS 2021, utilizando un Sistema CASA (Computed Asissted Sperm Analysis), similar al utilizado durante la PPO en el laboratorio de la URHMA. Los datos se muestran como medianas y rango. El análisis estadístico se realizó usando el test de Wilcoxon (no paramétrico) y se consideró significativo $p < 0.05$.

Condición	Vol	pH	Cc	Mov. Grado a	Mov. Grado b	Mov. Grado c	Inmov.	Muertos	Mov. progresivos	Normales
Grupo A (n=8)	3.75 (0.6-5.6)	7.65 (7.4-8.1)	55.01 (0-106.67)	18 (3-50)	14.5 (3-25)	1.5 (0-3)	47 (18-73)	15 (11-21)	34 (0-68)	1 (0-11)
Grupo B (n=8)	1.75 (0.2-4.9)	7.8 (7.6-8.3)	3.67 (0-77.31)	5 (0-35)	2.5 (0-23)	0	35.5 (0-51)	17 (0-78)	16.5 (0-44)	1 (0-5)
P value	0.0517	0.3916	0.2955	0.2149	0.0497	0.0121	0.2442	0.8971	0.2629	0.4041

3. CONCLUSIÓN

Partiendo de los datos provenientes del laboratorio de Referencia LAR se vio una marcada diferencia entre grupos en las variables volumen seminal, movilidad progresiva lenta y movilidad in situ, lo que sugiere efectos deletéreos y una posible reversibilidad de los mismos al suspender el uso.

La disminución significativa del volumen seminal en el grupo A se atribuye a la inhibición del eje HPG, es decir, a un cuadro de hipogonadismo hipogonadotrópico caracterizado por niveles reducidos de FSH y LH. Esto conlleva a atrofia testicular, disminuyendo tanto la espermatogénesis como la producción del líquido testicular. Además, se observa una alteración en el funcionamiento de las glándulas accesorias (próstata y vesículas seminales) responsables de generar el mayor porcentaje del volumen del eyaculado.

En cuanto a la motilidad espermática, las diferencias observadas también pueden atribuirse al hipogonadismo hipogonadotrópico, a la reducción de los niveles ITT, al

aumento del estrés oxidativo y al daño testicular asociado, que comprometen la integridad del flagelo y la producción de energía mitocondrial. Además, la alteración del ambiente epididimario y de la composición del líquido seminal, producto de la disfunción de las glándulas accesorias, contribuye negativamente a la maduración y movilidad de los espermatozoides.

La distribución porcentual de normozoospermicos en los grupos A y B fue del 42,8% y 12,5%, respectivamente. En los casos de azoospermia, oligoastenoteratozoospermia y teratozoospermia, las proporciones fueron del 14,3% en el grupo A y 25% en el grupo B.

En un estudio de caso realizado en el laboratorio URHMA, se le realizó un espermograma a un paciente que refirió consumo de EAA, cuyos resultados evidenciaron hipospermia acompañada de necrozoospermia.

Por otra parte, sigue en estudio el efecto del abuso de EAA sobre los distintos parámetros espermáticos como vitalidad, motilidad, concentración y recuento.

Más allá de su impacto en la fertilidad, el uso prolongado de EAA se asocia con múltiples efectos adversos, entre ellos dislipidemia, hepatotoxicidad, riesgo cardiovascular, estrés oxidativo y un potencial riesgo carcinogénico.

Es importante destacar que los datos demográficos sobre el consumo de estas sustancias son limitados y poco representativos, ya que su distribución se realiza principalmente a través de canales ilegales. Además, muchos consumidores no informan a los profesionales de la salud sobre su uso, lo que dificulta aún más su registro y análisis. En particular, en Argentina no se dispone de datos oficiales sobre este tipo de consumo.

4. PERSPECTIVAS

A través del análisis de la literatura científica y de las consecuencias fisiopatológicas asociadas, se logró visibilizar cómo el abuso de EAA puede comprometer funciones claves como la espermatogénesis, la integridad hormonal y la fertilidad.

Considero como una alternativa válida la criopreservación del espermatozoides en aquellos individuos que manifiesten el deseo de tener hijos y que, a pesar de conocer los

efectos adversos de los EAA sobre la fertilidad, decidan iniciar o continuar con su uso.

En el pasado, el abuso de estas sustancias fue generalizado y provocó importantes daños en la salud de los deportistas. Por este motivo, en la actualidad cobra un papel fundamental la labor de la Agencia Mundial Antidopaje, cuyos esfuerzos se centran en controlar y prevenir el uso indebido de EAA.

El desarrollo de campañas de concientización basadas en evidencia y el fortalecimiento del rol del profesional de la salud en la detección temprana son también líneas de acción necesarias, haciendo énfasis en jóvenes.

El comercio ilegal es otro punto clave, ya que, si se realiza una mayor vigilancia a este nivel, se logrará reducir la disponibilidad de estas sustancias.

5. BIBLIOGRAFÍA

Ana Linares, P. (2022). Efectos de los esteroides anabolizantes androgénicos en la calidad seminal. *Universidad Europea*. <http://hdl.handle.net/20.500.12880/2692>

Bonnie Grant, E., Hyams, E., Davies, R., Minhas, S., & Jayasena, C. N. (2024). Androgen abuse: Risks and adverse effects in men. *The New York Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1111/nyas.15187>

Corona, G., Rastrelli, G., Marchiani, S., Filippi, S., Morelli, A., Sarchielli, E., Sforza, A., Vignozzi, L., & Maggi, M. (2021). Consequences of Anabolic-Androgenic Steroid Abuse in Males: Sexual and Reproductive Perspective. *The World Journal of Men's Health*, 40(2), 165. <https://doi.org/10.5534/wjmh.210021>

De Almeida Azevedo, R., Gualano, B., Teixeira, T. A., Nascimento, B. C. G., & Hallak, J. (2024). Abusive use of anabolic androgenic steroids, male sexual dysfunction and infertility: An updated review. *Frontiers in Toxicology*, 6. <https://doi.org/10.3389/ftox.2024.1379272>

Domínguez, E., Fernández, P. N., Giménez, J., & Del Rosario Gerometta, R. M. (2013). *Estudio descriptivo del consumo de esteroides anabólicos en la población que asiste a gimnasios de la ciudad de Corrientes, Argentina*. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/8566>

García, F. (2011). Implicaciones andrológicas del abuso de esteroides androgénicos anabolizantes. *Revista Internacional de Andrología*, 9(4), 133–177.

José Luis Arrondo. *Fisiología hormonal masculina*. Asociación Española de Urología. <https://www.aeu.es/userfiles/muestramaterialdocentecfsh.pdf>

Mulawkar, P. M., Maheshwari, P. N., Gauhar, V., Agrawal, S. G., Mohammed, T. O., Singh, A. G., Tak, G. R., Shah, U. S., Shukla, D. P., & Mamankar, D. (2023). Use of anabolic-androgenic steroids and male fertility: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 16(4), 268–285. https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_90_23

Organización Mundial de la Salud. (2021). *Manual de laboratorio de la OMS para el examen y procesamiento del semen humano* (6.^a ed.). Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030787>

Osta, R. E., Almont, T., Diligent, C., Hubert, N., Eschwège, P., & Hubert, J. (2016). Anabolic steroids abuse and male infertility. *Basic and Clinical Andrology*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12610-016-0029-4>

Salerno, M., Cascio, O., Bertozzi, G., Sessa, F., Messina, A., Monda, V., Cipolloni, L., Biondi, A., Daniele, A., & Cristoforo, P. (2018). Anabolic androgenic steroids and carcinogenicity focusing on Leydig cell: A literature review. *Oncotarget*, 9(27), 19415–19426.

Snyder, P. J., & Lawrence, D. A. (1980). Treatment of male hypogonadism with testosterone enanthate. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 51(6), 1335–1339. <https://doi.org/10.1210/jcem-51-6-1335>

World Anti-Doping Agency. *The prohibited list*. <https://www.wada-ama.org/en/prohibited-list>

Comparación de tres métodos para detección fenotípica de BLEE y carbapenemasas en hisopados de vigilancia rectal

AUTORES: Tartarelli, Inés - Trevisán, Lucía

TUTOR: Rinaudo, Mariángel

COFORMADOR: Dumas, Miguel

INSTITUCIÓN: Sanatorio Británico

PRESENTACIÓN

La creciente prevalencia de Enterobacterias multirresistentes en entornos hospitalarios representa un desafío para la salud y la terapéutica clínica. Dentro de los mecanismos de resistencia más relevantes se encuentran la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas, enzimas capaces de inactivar un amplio espectro de antibióticos β -lactámicos, incluidos los carbapenémicos.

La vigilancia activa mediante hisopados rectales permite la detección precoz de pacientes colonizados y resulta clave para implementar medidas efectivas de control de infecciones, prevenir brotes nosocomiales y ajustar tratamientos empíricos. Por esto, la elección del método diagnóstico más sensible, específico y rápido resulta fundamental.

El presente trabajo compara el rendimiento de tres estrategias fenotípicas de detección: un método de siembra directa, un método propuesto basado en el enriquecimiento en caldo BHI con cefotaxima y un método con medio de cultivo comercial (conteniendo antibiótico), con el fin de establecer su utilidad en el contexto de vigilancia microbiológica de pacientes internados.

MARCO TEÓRICO

Entre los distintos antibióticos, los β -lactámicos son los más utilizados debido a su amplio espectro de acción y efectividad. Esta familia incluye penicilinas, cefalosporinas (1º, 2º, 3º y 4º generación), carbapenémicos y otros derivados, caracterizados por la presencia de un anillo β -lactámico en su estructura. Estos inhiben a las proteínas de unión a penicilinas (PBPs), enzimas esenciales en la síntesis de la pared celular, provocando la lisis del microorganismo y la muerte celular.

Sin embargo, el uso extensivo de los antibióticos ha favorecido la aparición de diferentes cepas bacterianas multiresistentes a los mismos. Estos aislamientos multirresistentes portadores de beta lactamasas son altamente transmisibles y la diseminación plasmídica hospitalaria es favorecida principalmente en aquellos

escenarios donde fallan los programas de control de infecciones asociadas al cuidado de la salud.

Diversos estudios concluyen que la colonización por patógenos resistentes a los antimicrobianos suele durar en promedio 2 a 3 meses, con posible persistencia hasta 1 año o más. (Mo *et al*, 2020). Por otro lado, la tasa de infección en pacientes colonizados oscila entre 20% y 65%, siendo más alta en contextos de brote hospitalarios, siendo el riesgo de infección más alto en los primeros 10 a 15 días tras la colonización, lo que define una ventana crítica para implementar medidas preventivas y estrategias de control. (Cano *et al*, 2022). El riesgo de infección puede extenderse hasta 2 años después de la colonización, aunque el mayor riesgo se concentra en los primeros 90 días. (Blagojevic *et al*, 2014)

Las BLEE —como las enzimas TEM, SHV y CTX-M— confieren resistencia a penicilinas, cefalosporinas de 1º, 2º, 3º y 4º generación, y monobactámicos, pero no a cefoxitina ni a carbapenémicos, y son inhibidas por ácido clavulánico. Por otro lado, las carbapenemasas como las oxacilinasas, las metalo- β -lactamasas (MBL) y las serinocarbapenemasas (KPC), degradan los carbapenémicos, principales fármacos utilizados frente a BLEE. Las KPC, hidrolizan eficazmente penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos, y son inhibidas por ácido borónico. Las MBL, son inhibidas por agentes quelantes como el EDTA, pero no por inhibidores clásicos.

La vigilancia mediante hisopados rectales contribuye significativamente a la prevención y control de la transmisión de estos microorganismos en el ámbito hospitalario. Su implementación permite evitar brotes y guiar el uso racional de antimicrobianos mediante la identificación precoz de portadores, optimizando los tratamientos y reduciendo efectos adversos. Desde el punto de vista epidemiológico, estas prácticas aportan información valiosa sobre la prevalencia y diseminación de cepas resistentes, permitiendo ajustar las estrategias de control y tratamiento. Aunque las técnicas moleculares son el estándar de referencia para la confirmación de genes de resistencia, su disponibilidad suele estar limitada en la práctica diaria debido a sus altos costos. Por ello, diversos métodos fenotípicos se utilizan como alternativas para la detección presuntiva de BLEE y carbapenemasas.

Entre los principales métodos fenotípicos se destacan: Método de difusión convencional o Kirby-bauer; Método de difusión en gradiente; Ensayos de sinergia; Sistemas automatizados (Ej: VITEK 2C, Phoenix); Métodos colorimétricos (Ej: Blue Carba); Uso de medios de cultivo selectivos y diferenciales.

Sin embargo, no existe un consenso sobre cuál de estos métodos implementar, ya que la elección depende del contexto epidemiológico y de los recursos disponibles en cada institución.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Comparar el rendimiento de tres métodos fenotípicos para la detección de BLEE y carbapenemasas en hisopados rectales de vigilancia y evaluar la concordancia categórica entre el método propuesto como nueva técnica en BritLab (enriquecimiento en caldo más selección con cefotaxima) versus el método de siembra directa y versus el método comercial.

Objetivos específicos:

- Cuantificar la eficiencia en la selección de cepas no silvestres (no-WT) al utilizar el método propuesto frente al directo.
- Analizar el impacto del enriquecimiento en caldo sobre la sensibilidad diagnóstica para detección de enterobacterias resistentes.
- Comparar la tasa de detección de BLEE y carbapenemasas entre los tres métodos.
- Describir la distribución de los mecanismos de resistencia identificados en los aislamientos recuperados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde el mes de enero hasta junio de 2025 se recolectaron muestras de hisopados rectales de 99 pacientes hospitalizados con alto riesgo de colonización por BLEE y carbapenemasas. Nuestra participación en el estudio tuvo lugar durante el período

de desarrollo de la PPO, sin embargo también se analizaron datos previos proporcionados por BritLab.

En el Sanatorio Británico se realizan hisopados de vigilancia semanales a pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) con 48-72hs de permanencia en la unidad, a pacientes con antecedentes de internaciones previas o con antecedentes de colonización por bacilos multirresistentes (MDR) y a pacientes trasplantados.

Métodos fenotípicos de detección analizados

Método directo: Siembra en medio cisteína, lactosa, deficiente en electrolitos (CLDE)

Se tomó el hisopo que contenía la muestra conservado en medio de transporte stuart y se sembró en una placa de agar CLDE comercial (Hemotécnica de Lucrecia Totaro). Luego de incubación 24hs a 37°C se seleccionaron todas las colonias de bacilos gram negativos fenotípicamente distintas para su posterior análisis.

Método comercial: Siembra directa en placa con inhibidores (CLDE + ATB)

Se tomó el hisopo con la muestra conservado en medio de transporte stuart y se sembró en una placa preparada con medio CLDE al que se le añadió un suplemento BLEE de la marca comercial CHROMagar, disuelto a una concentración de 0.57 g/L. La placa sembrada se incubó en estufa a 37°C durante 24 horas.

Método propuesto: Medio enriquecido preparado en el laboratorio

Se determinó el punto de corte epidemiológico (ECOFF), analizado mediante un histograma de Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CIM) según CLSI M23-Ed6, obtenidos de 100 cepas de Enterobacterales aisladas entre marzo y mayo de 2025 (figura 1) resultando en 30 ug/ml. Entonces, se colocó 1 mL de caldo de hemocultivo comercial (Britania) en un tubo y se suspendió un disco de Cefotaxima de 30 µg (Oxoid) para obtener una concentración final de 30 µg/ml del mismo.

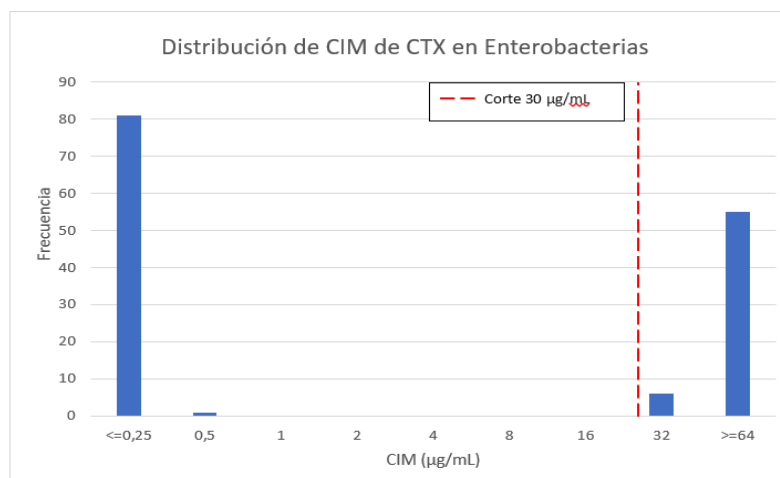


Figura 1. Histograma de CIMs de CTX de 100 aislamientos clínicos de Enterobacteriales obtenidas durante el periodo marzo-abril 2025.

Posteriormente, se adicionó el hisopo con la muestra y se incubó durante 18-24 horas. Luego, se descargó con un hisopo en un tercio placa de CLDE y se estrió mediante técnica de aislamiento. Se agregó un disco de Ertapenem de 30 μ g (Oxoid), siguiendo el protocolo del CDC 2002 (Laboratory Protocol for Detection of Carbapenem-Resistant or Carbapenemase-Producing, *Klebsiella* spp. and *E. coli* from Rectal Swabs). La placa sembrada se incubó en estufa a 37°C durante 24 horas.(Figura 4A/4B)

Confirmación de mecanismos de resistencia: Técnica de difusión con discos de antibióticos (CLSI M100-35 Ed)

En caso de observarse colonias aisladas fenotípicamente distintas, se realizó la búsqueda de BLEE y carbapenemasas. En el método propuesto, se realizó solo la búsqueda de BLEE y en caso de observarse un halo de inhibición pequeño de ertapenem (definido como ≤ 21 mm), se realizó un antibiograma adicional para confirmar la presencia de carbapenemasas. El antibiograma por difusión se realizó por el método Kirby Bauer. Para la confirmación de BLEE, se llevó a cabo ensayos de sinergia de doble disco, utilizando como inhibidor ácido clavulánico (Figura 5). Para la confirmación de carbapenemasas, se realizaron ensayos de sinergia de doble disco utilizando EDTA y ácido bórico como inhibidores (Figura 6) .La

identificación de los aislamientos se realizó mediante espectrometría de masas utilizando la plataforma MALDI-TOF (VITEK® MS, bioMérieux).

Para el análisis estadístico, se empleó el coeficiente kappa de Cohen con el fin de evaluar la concordancia categórica entre los métodos, definiendo al mismo como:

Coeficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)

Tabla 1. Valoración del coeficiente Kappa

La comparación de proporciones de muestras pareadas se realizó mediante el test de McNemar, calculando el valor de p para determinar la significancia estadística. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando Google Colab (Python).

RESULTADOS

Se analizaron un total de 62 hisopados rectales mediante el método de siembra directa y el método propuesto, y 37 hisopados con el método propuesto y el método comercial.

En la comparación entre el método de siembra directa y el método propuesto, se obtuvo un coeficiente de concordancia de Cohen de 0,508, lo que representa un acuerdo moderado. En total, se identificaron 14 falsos negativos con el método de siembra directa en relación con el método propuesto: 11 correspondieron a cepas productoras de BLEE y 3 a cepas MBL (Figura 2).

Asimismo, de los 26 hisopados en los que en el método directo no se obtuvo desarrollo, en cuatro de estos casos se evidenciaron discrepancias por el método propuesto: Tres de ellas fueron positivas para BLEE y una como MBL (Figura 2).

Por otra parte, se realizó el seguimiento de al menos una colonia en 20 de los hisopados reportados como negativos por el método directo. En 10 de estos casos (50 %), el método propuesto logró detectar cepas BLEE o KPC, considerándose

falsos negativos del método tradicional. En ocho casos (40 %), no se observó crecimiento con el método propuesto, posiblemente debido a la presión selectiva ejercida por el antibiótico en el medio enriquecido. En los dos casos restantes, ambos métodos coincidieron en resultados negativos (Figura 2).

En conjunto, el método propuesto detectó cepas BLEE o KPC en el 45 % de las muestras, mientras que el método tradicional lo hizo en solo el 26 %, diferencia que resultó estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

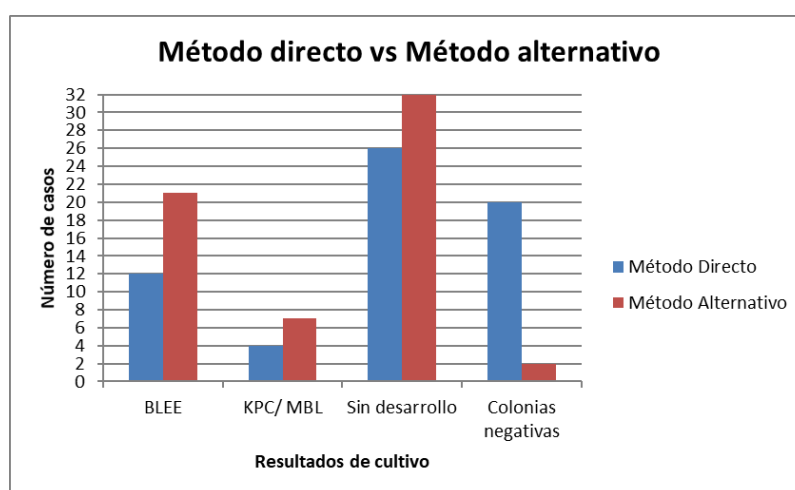


Figura 2. Gráfico de barras, comparación de los resultados obtenidos para BLEE, KPC/MBL por cada método o resultados negativos.

Al comparar el método propuesto con el método comercial, se obtuvo un coeficiente kappa de 0,873, lo que indica una concordancia muy buena entre ambos. Las discrepancias fueron mínimas y se limitaron a tres cepas productoras de BLEE: dos fueron detectadas únicamente por el método propuesto y una solo por el método comercial. En cuanto a la detección de cepas productoras de carbapenemasas (KPC y MBL), ambos métodos coincidieron en el 100 % de los casos (Figura 3)

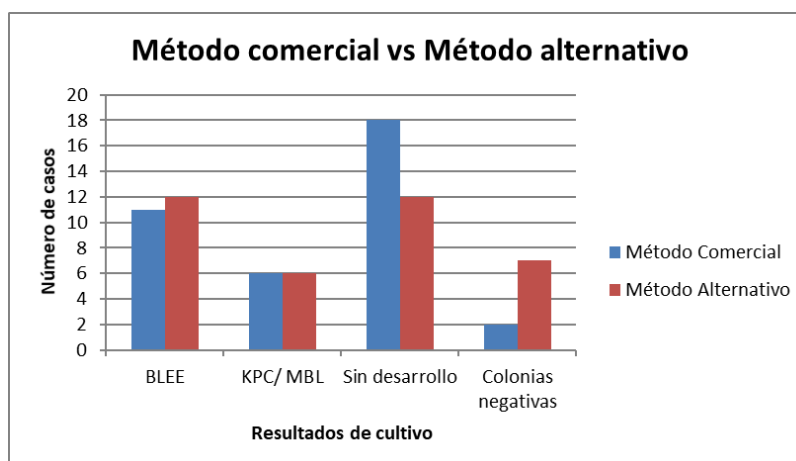


Figura 3. Gráfico de barras, comparación de los resultados obtenidos para BLEE, KPC/MBL por cada método o resultados negativos.

Distribución de los mecanismos de resistencia

	N° de hisopados	Cepas resistentes	BLEE	KPC/MBL
Siembra directa	62	16	12 (75%)	4 (25%)
Método propuesto	62	28	21 (75%)	7 (25%)

Tabla 2. Siembra directa vs. método propuesto

	N° de hisopados	Cepas resistentes	BLEE (%)	KPC/MBL (%)	Aislamientos sin R *
Método comercial	37	17	11 (65%)	6 (35%)	1 BLEE 5 negativos
Método propuesto	37	18	12 (67%)	6 (33%)	6 negativos

Tabla 3. Método comercial vs. método propuesto

* Se refiere a colonias recuperadas por el método propuesto que no evidenciaron resistencia fenotípica por el método comercial.

Total de cepas analizadas por método propuesto	Halos grandes (presuntivo BLEE)	Halos pequeños (presuntivo KPC/MBL)
48	33	15

Tabla 4. Evaluación con discos de ertapenem utilizando el método propuesto

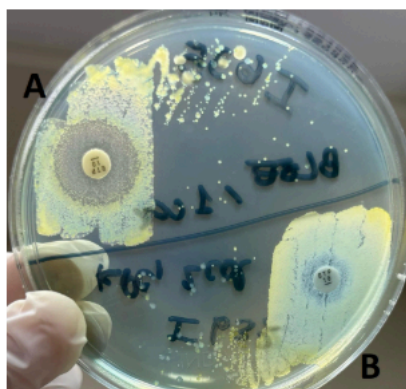


Figura 4A/4B

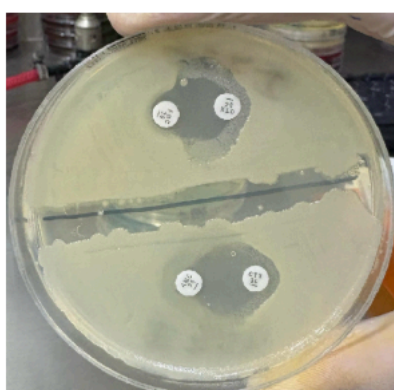


Figura 5



Figura 6

Figura 4A. Colonias sensibles a ETP. Sospecha de BLEE.

Figura 4B. Colonias resistentes a ETP. Sospecha de BLEE y/o carbapenemasas.

Figura 5. Ensayo de sinergia de doble disco entre CTX y AMC, confirmando la presencia de BLEE.

Figura 6. Ensayo de sinergia entre IMP, EDTA y MEM, confirmando la presencia de MBL.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La concordancia categórica entre el método de siembra directa y el método propuesto fue limitada. En este sentido, el método propuesto logró identificar cepas BLEE o KPC en el 45 % de los casos, mientras que el método de siembra directa solo lo hizo en el 26 % ($p < 0,05$), lo que indica un mayor rendimiento diagnóstico del enfoque propuesto. Este mejor desempeño podría explicarse por el doble efecto del enriquecimiento en caldo, que favorece el desarrollo de cepas resistentes a cefotaxima, junto con la inhibición selectiva de las cepas salvajes. El método de siembra directa mostró una sensibilidad reducida, atribuible en parte a la presencia

de flora polimicrobiana que puede interferir en el desarrollo de bacterias resistentes, comprometiendo así su identificación.

Por otro lado, la concordancia categórica entre el método propuesto y el método comercial fue casi perfecta. El método propuesto mostró un rendimiento comparable al del método comercial, destacándose como una alternativa viable en entornos con recursos limitados, dada su menor complejidad técnica y costo.

Si bien el enriquecimiento en caldo no mejoró la detección frente al método comercial, sí aumentó la sensibilidad respecto al método directo, permitiendo seleccionar cepas resistentes (no-WT).

Además el método propuesto permitió discriminar entre cepas susceptibles (presumiblemente BLEE) y aquellas con probable producción de carbapenemasas mediante la diferenciación de halos grandes y pequeños de Ertapenem, evitando la realización de pruebas confirmatorias innecesarias.

Entre las limitaciones del estudio, se destaca el tiempo necesario para obtener resultados mediante el método propuesto (mínimo 3 días). Otra limitación metodológica es el uso de medio CLDE para la colocación de los discos de Ertapenem ya que el cambio en el tipo de medio (estandarizado para Muller-Hinton) y en el inóculo bacteriano podría influir en la expresión fenotípica de la inhibición. Por otro lado, la ausencia de un método de referencia de mayor sensibilidad limita la posibilidad de establecer con precisión la verdadera tasa de falsos negativos o positivos. Además podemos incluir la interferencia que generan los Enterococos en la lectura del halo de inhibición de ertapenem, pudiendo crecer dentro del mismo, dificultando la correcta interpretación. Finalmente, la ausencia de cepas productoras de OXA en la muestra analizada impidió evaluar el desempeño del método frente a este tipo particular de carbapenemasa.

PERSPECTIVAS

Las perspectivas de este trabajo están estrechamente vinculadas a las limitaciones previamente identificadas. En primer lugar, se propone validar el método propuesto mediante el análisis de un mayor número de muestras, incorporando además cepas

productoras de oxacilinasas, con el objetivo de evaluar su desempeño analítico y su reproducibilidad en diferentes contextos epidemiológicos y microbiológicos.

Asimismo, se considera fundamental evaluar la estabilidad del medio enriquecido con cefotaxima a lo largo del tiempo, con el propósito de garantizar su eficacia diagnóstica y su comportamiento reproducible bajo distintas condiciones de almacenamiento y conservación.

En línea con la mejora de la selectividad del medio, se sugiere optimizar el caldo de enriquecimiento mediante la incorporación de inhibidores de cocos Gram positivos, como daptomicina o vancomicina, a fin de reducir el crecimiento de flora acompañante y mejorar la recuperación de bacilos Gram negativos resistentes.

Por último, en relación con la categorización de los halos de inhibición de ertapenem en “grandes” y “pequeños” como indicador presuntivo de producción de carbapenemasas, se recomienda validar específicamente estos valores de referencia para el medio CLDE. Esta validación permitiría asegurar una interpretación confiable y adaptada a las condiciones particulares del ensayo utilizado.

BIBLIOGRAFÍA

- Blagojevic, C., Brown, K. A., Diong, C., Fridman, D. J., Johnstone, J., Langford, B. J., Lee, S. M., MacFadden, D. R., Schwartz, K. L., & Daneman, N. (2024). Long-term risk of infection among patients colonized with antimicrobial-resistant pathogens: A population-wide cohort study. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(12), ofae712. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofae712>

- Cano, Á., Gutiérrez-Gutiérrez, B., Machuca, I., Torre-Giménez, J., Gracia-Ahufinger, I., Natera, A. M., Pérez-Nadales, E., Castón, J. J., Rodríguez-Baño, J., Martínez-Martínez, L., & Torre-Cisneros, J. (2022). Association between timing of colonization and risk of developing *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients. *Microbiology Spectrum*, 10(2), e0197021. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01970-21>

- Mo, Y., Hernandez-Koutoucheva, A., Musicha, P., Bertrand, D., Lye, D., Ng, O. T., Fenlon, S. N., Chen, S. L., Ling, M. L., Tang, W. Y., Barkham, T., Nagarajan, N., Cooper, B. S., & Marimuthu, K. (2020). Duration of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae carriage in hospital patients. *Emerging Infectious Diseases*, 26(9), 2182–2185. <https://doi.org/10.3201/eid2609.190592>

- Richter, S. S., & Marchaim, D. (2017). Screening for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Who, when, and how? *Virulence*, 8(4), 417–426. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1255381>

- Sandra-Toledo, L., Paz-Montes, A., Piña-Reyes, E., & Perozo-Mena, A. (2007). Enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario de Venezuela. *Kasmera*, 35(1), 15–25. Recuperado el 17 de julio de 2025, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222007000100003&lng=en&tlng=es

- Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00047-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>

- Vrioni, G., Daniil, I., Voulgari, E., Ranellou, K., Koumaki, V., Ghirardi, S., Kimouli, M., Zambardi, G., & Tsakris, A. (2012). Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in surveillance rectal swabs. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(6), 1841–1846. <https://doi.org/10.1128/JCM.06848-11>

- Mora-Ochomogo, M., & Lohans, C. T. (2021). β -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: From covalent inhibitors to substrates. *RSC Medicinal Chemistry*, 12(10), 1623–1639. <https://doi.org/10.1039/d1md00200g>

- Cerda L., J., & Villarroel del P., L. (2008). Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Revista Chilena de Pediatría*, 79(1), 54–58. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062008000100008>

Tartarelli, Inés¹; Trevisán, Lucía¹; Castellarín, Celia²; Rinaudo, Mariángel^{3,4}; Dumas, Miguel³

¹Facultad de Cs Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Directora técnica Sanatorio Británico. ³Coformador. ⁴Tutora académica

INTRODUCCIÓN

La creciente prevalencia de Enterobacterias multiresistentes en hospitales constituye un desafío para la salud y la terapéutica clínica. Estas bacterias presentan mecanismos de resistencia como la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas, que inactivan diversos antibióticos β -lactámicos, incluidos los carbapenémicos. La vigilancia activa mediante hisopados rectales permite detectar precozmente pacientes colonizados, aplicar medidas de control, prevenir brotes y ajustar tratamientos. Por ello, es esencial elegir métodos diagnósticos sensibles, específicos y rápidos.

OBJETIVOS

Comparar el rendimiento de tres métodos fenotípicos para la detección de BLEE y carbapenemasas en hisopados rectales de vigilancia y evaluar la concordancia categórica entre el método propuesto como nueva técnica en BritLab (enriquecimiento en caldo más selección con cefotaxima) versus el método de siembra directa y versus el método comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron muestras de hisopados rectales de 99 pacientes hospitalizados en el Sanatorio Británico con alto riesgo de colonización por BLEE y carbapenemasas, y se estudiaron mediante:

*Método directo: Siembra en medio CLDE

*Método comercial: Siembra directa en placa (CLDE + ATB)

*Método propuesto: incubación 24hs de la muestra en caldo BHI conteniendo disco de cefotaxima. Posterior siembra en CLDE.

Para la confirmación de mecanismos de R se llevó a cabo ensayos de sinergia de doble disco.

Para el análisis estadístico, se empleó el coeficiente kappa de Cohen con el fin de evaluar la concordancia categórica entre los métodos.

RESULTADOS

Se analizaron 62 y 37 hisopados según los métodos comparados. El método propuesto mostró un acuerdo moderado ($\kappa = 0,508$) con la siembra directa y detectó más cepas BLEE y KPC (45 % vs 26 %), evidenciando 14 falsos negativos del método tradicional. En comparación con el método comercial, presentó una concordancia muy buena ($\kappa = 0,873$) y coincidencia del 100 % en KPC y MBL, con mínimas discrepancias en cepas BLEE.

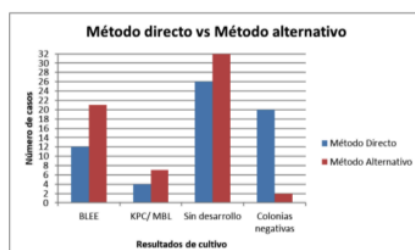


Figura 1. Gráfico de barras, comparación de los resultados obtenidos para BLEE, KPC/MBL por cada método o resultados negativos.

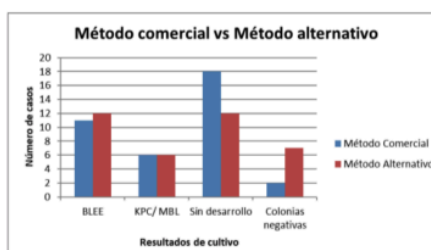


Figura 2. Gráfico de barras, comparación de los resultados obtenidos para BLEE, KPC/MBL por cada método o resultados negativos.

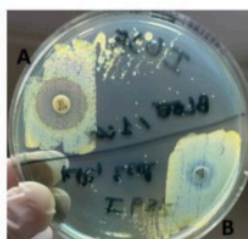


Figura 3A. Colonias sensibles a ETP. Sospecha de BLEE.

Figura 3B. Colonias resistentes a ETP. Sospecha de BLEE y/o carbapenemasas



Figura 4. Ensayo de sinergia de doble disco entre CTX y AMC, confirmando la presencia de BLEE.



Figura 5. Ensayo de sinergia entre IMP, EDTA y MEM, confirmando la presencia de MBL.

CONCLUSIÓN

El método propuesto demostró un mayor rendimiento diagnóstico que la siembra directa, atribuible al efecto del enriquecimiento en caldo, que favorece el crecimiento de cepas resistentes e inhibe las sensibles. En cambio, la sensibilidad reducida del método directo podría deberse a la flora polimicrobiana que interfiere en el desarrollo de bacterias resistentes.

La concordancia entre el método propuesto y el comercial fue casi perfecta, mostrando un desempeño comparable y posicionándose como una alternativa práctica y económica en contextos con recursos limitados. Además, permitió distinguir cepas BLEE de carbapenemasas según los halos de Ertapenem, evitando pruebas confirmatorias innecesarias.

Estudio de caso clínico de Fiebre Hemorrágica
Argentina: diagnóstico, evolución y tratamiento

Autoras: Klotz, Luciana Inés; Ponzelli, Nadia Natalí.

Tutora: Malandra, Rocío Belén.

Efector: Hospital San Felipe de San Nicolás de los
Arroyos.

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA
Facultad De Ciencias Bioquímicas y
Farmacéuticas-
Universidad Nacional de Rosario.

PRESENTACIÓN

La Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA) es una enfermedad endémica del centro-norte del país, cuya presencia se ha mantenido de forma persistente en una franja agropecuaria caracterizada por condiciones ecológicas y sociales que favorecen su circulación. Dentro de esta zona se encuentra San Nicolás de los Arroyos, en el norte de la provincia de Buenos Aires, una de las localidades incluidas en la región endémica de la enfermedad.

En este tipo de territorios, donde la actividad agrícola y la exposición a factores de riesgo son frecuentes, la FHA es un problema relevante para la salud pública. Por este motivo, el análisis de casos clínicos reales resulta fundamental para reflexionar sobre las estrategias de detección, tratamiento y prevención, especialmente donde la circulación viral puede pasar desapercibida si no se la aborda desde una mirada integral.

El objetivo final de este trabajo es analizar un caso clínico real de FHA con un enfoque clínico y epidemiológico, con el propósito de comprender las manifestaciones clínicas de la enfermedad, los criterios para el diagnóstico y tratamiento a tiempo, así como su impacto en el contexto sanitario de una región endémica como San Nicolás de los Arroyos.

MARCO TEÓRICO

La FHA es una enfermedad viral causada por el virus Junín perteneciente a la familia *Arenaviridae*. Estos virus infectan a un número limitado de especies de roedores (*Calomys musculus*, laucha manchada, laucha del maíz, ratón maicero y excepcionalmente *Calomys laucha*), los cuales eliminan el virus a través de saliva, orina y sangre.

El hombre adquiere la enfermedad por contacto con roedores infectados, a través de la inhalación de aerosoles de las excretas (vía más importante) o por contacto de las mismas con pequeñas excoriaciones de piel o mucosas. La transmisión interhumana es muy infrecuente.

AGENTE ETIOLÓGICO:

Virus Junino, perteneciente a la familia Arenaviridae, y género Mammarenavirus. Tiene como características que es un virus envuelto, esférico o pleomórfico, con un tamaño que varía de 50 a 300nm, es de simple hebra de ARN de polaridad mixta y segmentado. Tiene las glicoproteínas G1 y G2 y la nucleoproteína NP.

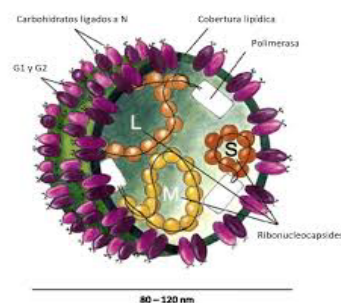


Figura 1: Estructura del virus Junín.

EPIDEMIOLOGÍA

El virus Junín se encuentra distribuido principalmente en una región del centro-norte de Argentina, que abarca el norte de la provincia de Buenos Aires, el sur de Santa Fe, el sur de Córdoba y el noreste de La Pampa. Esta zona es conocida como la región endémica de la Fiebre Hemorrágica Argentina. San Nicolás de los Arroyos presentó un total de 24 casos confirmados en 2024 y 9 casos confirmados en 2025, **registrándose de esta manera, como la ciudad con más casos en toda la región endémica.**

CLÍNICA

Presenta variedad de síntomas inespecíficos y puede dividirse en cuatro etapas. Comienza con un periodo de **incubación** de 6-14 días, seguido de una **fase prodrómica** de 3-4 días de inicio insidioso siendo los síntomas más comunes: síndrome febril, decaimiento, anorexia, cefalea, mialgias, dolor retroocular, náuseas y vómitos. Le sigue una **fase hemorrágica-neurológica** con una duración de 8-10 días presentando: facie eritematosa, exantema eritematoso (cuello y parte superior tronco), adenopatías, exantema bucofaríngeo (red vascular paladar, gingivorragia), hemorragias nasales, hipotensión, vasoconstricción. La fase hemorrágica es una forma clínica grave: consta de hemorragia gastrointestinal (hematemesis), hematuria, metrorragias, hematoma y shock; aunque el mecanismo exacto de la hemorragia y el aumento de la permeabilidad vascular no se comprende del todo, se ha observado que el virus puede invadir directamente el endotelio vascular, y la secreción de citoquinas por los macrófagos podría contribuir a los cambios circulatorios asociados a un peor pronóstico. La fase neurológica puede presentar

confusión mental, delirio, convulsiones generalizadas. Tiene una asociación comprobada con el uso de plasma inmune ya que el síndrome neurológico tardío (SNT) se presenta exclusivamente en pacientes que fueron tratados con plasma inmune, pero no está correlacionado con el día de evolución en que se administró el plasma ni con la dosis de anticuerpos neutralizantes contra el virus Junín transfundida. Las características del SNT sugieren la participación de mecanismos inmunológicos en su patogenia. Se discuten varias hipótesis, tales como la de una persistencia del virus o sus antígenos en el sistema nervioso central y se analiza el significado de la asociación entre el SNT y el tratamiento con plasma inmune. Se plantea la posibilidad de que este cuadro sea análogo a otras encefalitis post-infecciosas, señalando la elevada incidencia del SNT de la FHA. Otra de las posibles causas sería la hipersensibilidad retardada mediada por linfocitos T.

La **fase de convalecencia** constituye la etapa final de la enfermedad y puede durar entre 1 y 3 meses. Durante este período, el paciente puede presentar astenia (debilidad), hipoacusia (disminución de la audición), trastornos de la memoria, irritabilidad y pérdida transitoria del cabello.

DIAGNÓSTICO

“Se define como caso sospechoso a todo paciente que presente un síndrome febril inespecífico, recuento de glóbulos blancos menor o igual a $4000/\text{mm}^3$, recuento de plaquetas menor o igual a $100000/\text{mm}^3$ y cuyo lugar de residencia sea dentro del área endémica de la FHA o que hayan visitado la región en las 3 semanas previas al inicio de los síntomas.”

La confirmación del diagnóstico mediante estudios virológicos pretende lograr dos objetivos: confirmar o descartar el diagnóstico de FHA en todos los casos notificados, y generar información sobre las personas que tienen anticuerpos contra el virus Junín, a fin de incluirlos como potenciales donantes de plasma inmune para el tratamiento de los enfermos de FHA.

Es una enfermedad de denuncia obligatoria y de notificación inmediata al sistema de vigilancia nacional SNVS-2 ante caso sospechoso. En Argentina, el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica están coordinados por el Instituto Nacional de

Enfermedades Virales Humanas (INEVH) "Dr. Julio I. Maiztegui", que depende de la ANLIS-Malbrán y funciona como centro de referencia nacional para FHA.



El diagnóstico se puede hacer mediante el uso de la biología molecular, realizando una RT-PCR real time usando primers y sondas específicas para el virus Junín (Taqman-MGB) que amplifica un fragmento de la GPC. También se puede hacer una RT-PCR usando primers genéricos y específicos (fragmentos del gen de la GPC y NP) junto con una secuenciación.

La incorporación de nuevas técnicas para el diagnóstico etiológico, como la Real Time RT-PCR han acelerado los tiempos para la disponibilidad de una respuesta diagnóstica desde el punto de vista del laboratorio. Una prueba negativa de RT-PCR no descarta el diagnóstico de FHA, por lo tanto la decisión de trasfundir plasma inmune a un enfermo, debe realizarse sobre bases clínicas dentro de la primera semana desde el inicio de los síntomas.

Las pruebas serológicas, como ELISA, se utilizan para detectar anticuerpos de clase IgM e IgG contra JUNV. Estas pruebas son útiles para confirmar tanto infecciones recientes (IgM) como pasadas (IgG). Sin embargo, la interpretación de los resultados puede ser complicada debido a la persistencia a largo plazo de los anticuerpos IgG en individuos que han sido previamente infectados. Esto puede generar dificultades en la diferenciación entre infecciones actuales y pasadas. Para el diagnóstico serológico es esencial disponer de muestras pareadas de suero: la primera muestra debe tomarse durante el período agudo de la enfermedad, antes de la transfusión de plasma inmune, mientras que la segunda muestra se recoge en la fase de

convalecencia, entre 30 y 60 días después. Esta segunda muestra permite evaluar la respuesta inmune específica del paciente, ya que los anticuerpos transfundidos pasivamente pueden estar presentes hasta 30 días. El diagnóstico serológico requiere la demostración de seroconversión, es decir, ausencia de anticuerpos en la muestra del período agudo, con aparición en la convalecencia, o un aumento de cuatro diluciones en la segunda muestra.

Se puede realizar un aislamiento viral, esto se hace en personas fallecidas, mediante cultivos celulares, porque no es posible obtener una segunda muestra.

El dengue es el principal diagnóstico diferencial en muchas regiones del país donde ambas enfermedades pueden coexistir. Los síntomas son: fiebre alta, mialgias, cefalea, dolor retroocular, malestar general. En el dengue no suele haber compromiso neurológico y en la FHA puede aparecer hipotensión, somnolencia, temblores, y manifestaciones hemorrágicas más intensas (como sangrado por mucosas o tracto digestivo).

También se debe evaluar el diagnóstico diferencial con: Hantavirus, Leptospirosis, Rickettsiosis, Fiebre tifoidea, Hepatitis, Mononucleosis infecciosa, intoxicaciones y Covid.

LABORATORIO:

En la fase aguda el paciente presenta: Leucopenia (~1.000 - 2.000/ml), plaquetopenia (50.000 – 100.000/ml), proteinuria, hematuria y cilindros hialinos en sedimento y elevadas citosinas

PREVENCIÓN:

Administración de la vacuna CANDID #1, es una vacuna viral atenuada parenteral con cepa homónima de JUNV. Indicada para residentes de áreas endémicas. Producida por el INEVH "Dr. Julio I. Maiztegui". Eficaz en la reducción de casos. Se aplica en una sola dosis y no se han descripto efectos colaterales de importancia asociados a la misma. La vacunación forma parte del Programa Nacional de Inmunizaciones desde el año 2007 y es coordinada por los Ministerios de Salud de las cuatro provincias afectadas por la enfermedad, con el apoyo del INEVH "Dr. Julio I. Maiztegui". Su desarrollo es el resultado de un proyecto internacional que involucró al Ministerio de Salud de la Nación, al Instituto Nacional de Enfermedades Virales

Humanas (INEVH-ANLIS), a la Organización Panamericana de la Salud (OPS-OMS), y al United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USMRIID). Las condiciones que deben reunir las personas que deseen vacunarse son: residir o desarrollar actividades en las localidades de las cuatro provincias donde se han presentado casos de FHA en los últimos años, ser mayor de 15 años y no haber recibido vacuna Candid #1 anteriormente. En caso de mujeres, no deben estar embarazadas o amamantando. La persona no debe presentar cuadros agudos o crónicos descompensados ni debe estar recibiendo corticoides sistémicos o presentar cuadros de inmunosupresión. Tampoco tiene que haber recibido otras vacunas y/o gammaglobulinas en el mes previo ni recibirlas en el mes posterior a recibir Candid #1.

También es necesario realizar un control ambiental mediante la desratización y eliminación de refugios de roedores, y educación comunitaria sobre medidas de prevención.

TRATAMIENTO:

Uno de los tratamientos más utilizados es el plasma de pacientes convalecientes, el cual consiste en administrar a los pacientes infectados plasma de pacientes que ya se recuperaron de la enfermedad. El mismo contiene anticuerpos específicos contra el virus Junín, que pueden ayudar al paciente enfermo a combatir la infección. Al transfundir ese plasma a un paciente infectado, los anticuerpos comienzan a neutralizar el virus, dándole tiempo al sistema inmune del paciente para montar su propia respuesta.

Debe administrarse dentro de los primeros 8 días desde el inicio de los síntomas, ya que si se realiza a tiempo reduce significativamente la mortalidad a menos del 1%. Sin tratamiento la mortalidad puede superar el 20%.

Se debe testear que tenga alto título de anticuerpos neutralizantes contra el virus Junín y además, se debe realizar un control de calidad para evitar riesgos infecciosos (como hepatitis o VIH). La dosis a administrar es de 3500UT por kilogramos del paciente.

No se debe realizar la transfusión de plasma convaleciente, sin antes descartar el diagnóstico de dengue.

PRESENTACIÓN DE CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de una paciente femenina de 58 años, sin cobertura social, ama de casa, sin antecedentes personales de relevancia, que ingresó al hospital San Felipe el 10 de mayo de 2025. Consultó inicialmente por un cuadro de siete días de evolución, caracterizado por astenia marcada, fiebre, mialgias, decaimiento general y náuseas. Ante la persistencia de los síntomas, se presentó en la guardia, donde se solicitó laboratorio que evidenció bicitopenia. Debido a la falta de mejoría y el contexto epidemiológico, se sospechó una enfermedad endémica, en particular Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA). La paciente niega sangrados, diarrea o presencia de petequias. Fue internada.

Se realiza prueba rápida para la detección de dengue, la cual resulta negativa para antígeno NS1, anticuerpos IgM y anticuerpos IgG.

Se derivaron muestras de sangre al instituto Maiztegui para su respectivo análisis de biología molecular, siendo una muestra positiva para FHA.

A continuación se presentan los gráficos correspondientes a la evolución de los principales parámetros de laboratorio obtenidos a lo largo de la internación de la paciente.

Evolución del recuento de leucocitos durante la internación

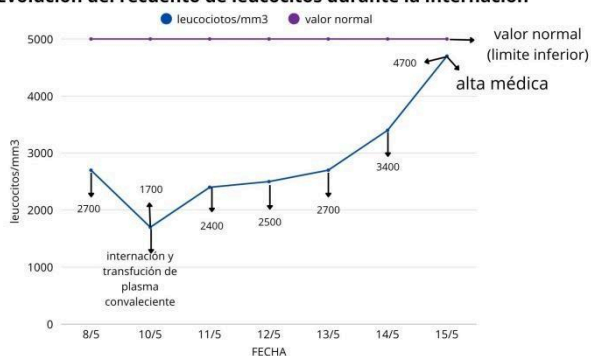


GRAFICO 1: Variación del recuento de leucocitos (leucocitos/mm³), desde la internación hasta el alta médica

Evolución de la actividad sérica de GPT durante la internación

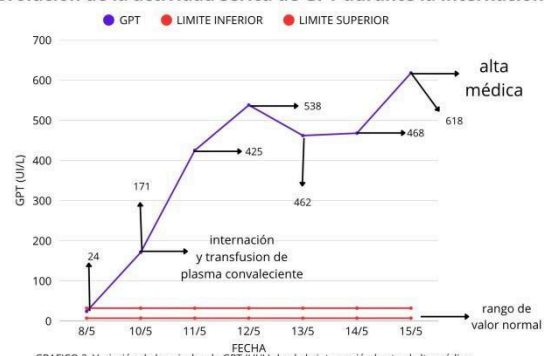


GRAFICO 2: Variación de los niveles de GPT (U/L) desde la internación hasta el alta médica

Evolución de los niveles de GOT (UI/L) durante la internación

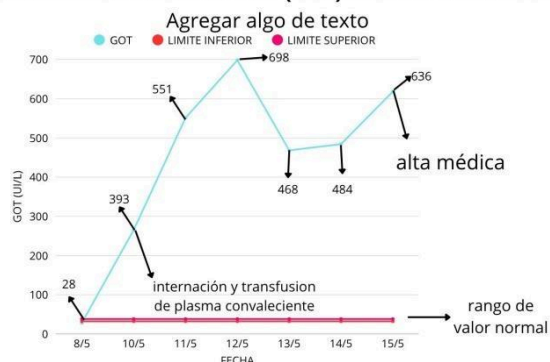


GRAFICO 3: variación de los niveles de GPT (UI/L), desde la internación hasta el alta médica

Evolución del recuento de plaquetas durante la internación

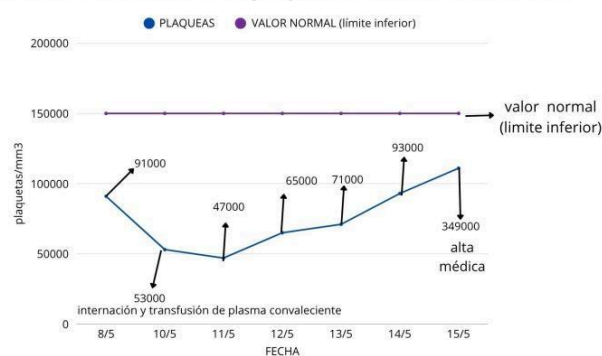


GRAFICO 4: Variación de plaquetas (plaquetas/mm3), desde la internación hasta el alta médica

En éste caso la evolución fue consistente con la esperada para un cuadro típico de FHA. En el seguimiento de laboratorio durante la internación, se observó una trombocitopenia marcada, leucopenia significativa y parámetros concordantes con lo descrito en el marco teórico. Luego de la administración de plasma de convaleciente, se registró una mejoría clínica acompañada de una recuperación progresiva en los valores hematológicos. Sin embargo, resulta relevante señalar que esta mejoría fue parcial: si bien las plaquetas aumentaron luego de la transfusión, no lograron superar el límite inferior del valor de referencia al momento del alta. Del mismo modo, los leucocitos evidenciaron una tendencia ascendente, aunque sin alcanzar valores normales. En cuanto a las transaminasas, la GOT disminuyó parcialmente, mientras que la GPT, tras un leve descenso, volvió a aumentar hacia el final del seguimiento.

La evolución favorable del cuadro, acompañada por una tendencia ascendente en los valores de laboratorio, permitió indicar el alta hospitalaria.

Treinta y ocho días después, la paciente reingresó al Hospital San Felipe por la aparición de síntomas neurológicos progresivos, estos eran náuseas, vómitos y somnolencia. Los signos que presentó fueron temblor en las manos, temblor en la lengua y nistagmus, signos compatibles con un síndrome neurológico tardío.

Durante esta segunda internación se realizó una evaluación clínica completa, acompañada de análisis de laboratorio, donde no se vieron alterados los valores; radiografía de tórax y ecografías. Los resultados no evidenciaron signos de infección

activa ni hallazgos compatibles con otras causas infecciosas, estructurales o metabólicas. La paciente recibió tratamiento sintomático, principalmente con analgésicos y seguimiento neurológico clínico.

La evolución fue favorable, con una mejoría paulatina del cuadro neurológico y sin aparición de nuevos síntomas. La paciente fue dada de alta con indicación de seguimiento ambulatorio y control evolutivo. Este evento pone de manifiesto la importancia del seguimiento clínico posterior al alta, dado que las manifestaciones neurológicas tardías, aunque infrecuentes, pueden representar una secuela significativa en la evolución de la FHA.

DISCUSIÓN:

Este caso clínico permite analizar los aspectos teóricos y clínicos de la Fiebre Hemorrágica Argentina en una zona endémica como lo es San Nicolás de los Arroyos. La paciente consultó con síntomas compatibles con la enfermedad en una fase aguda y los síntomas descriptos en el marco teórico. Los valores hematológicos de bicitopenia (leucopenia y trombocitopenia) coinciden con la sospecha clínica de FHA, que posteriormente se confirmó por biología molecular mediante RT-PCR.

Durante la primera internación, la evolución concuerda con lo que establece la bibliografía: una recuperación paulatina tras la administración temprana de plasma de convaleciente dentro de los primeros 8 días de inicio de los síntomas, con mejoría clínica. Sin embargo, los parámetros bioquímicos y hematológicos no se normalizaron completamente. Esto no debe interpretarse como un fracaso terapéutico, sino como parte del curso natural de la enfermedad. La recuperación completa de los parámetros de laboratorio puede demorar varias semanas, incluso después de la resolución clínica. En este sentido, el caso demuestra una evolución favorable dentro de lo esperado. El hecho de que la paciente no presentara comorbilidades ni otras condiciones agravantes, podría haber influido positivamente en su evolución.

La segunda internación ocurrió por compromiso neurológico, una posible complicación en pacientes que reciben plasma convaleciente. Tal como se explicó en el marco teórico, esta manifestación se asocia a una reacción inmunológica. Los

síntomas fueron reversibles y no hubo valores alterados de laboratorio ni signos de infección activa, confirmando la hipótesis de un síndrome neurológico tardío.

El análisis del caso muestra cómo una adecuada sospecha clínica, junto con una correcta articulación entre diagnóstico, tratamiento y seguimiento, puede influir favorablemente en la evolución de pacientes con enfermedades endémicas de alto impacto regional.

PERSPECTIVAS:

- Fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica en zonas endémicas, mediante capacitación continua a todo el personal de salud para poder detectar la infección de manera temprana.

- Realizar más investigaciones sobre las complicaciones por la administración de plasma convaleciente, para evitar que se produzca el síndrome neurológico tardío, ya que si este no es diagnosticado a tiempo puede tener graves consecuencias.

- Desarrollo de protocolos médicos para el seguimiento médico posterior al alta médica en pacientes tratados con plasma, para poder realizar un tratamiento adecuado y a tiempo en caso de que se produzca un síndrome neurológico tardío.

- Implementación de medidas entre los diferentes profesionales de la salud: médicos, bioquímicos, infectólogos, neurólogos y enfermeros, para asegurar una buena atención al paciente durante la enfermedad.

- Promoción de la vacuna a la población de zonas endémicas, haciendo énfasis en el conocimiento sobre la FHA, la importancia de la vacunación, el control de roedores y las medidas de protección durante actividades rurales.

- Concientización al paciente que haya cursado la enfermedad, sobre la donación de plasma convaleciente ya que es un potencial donante.

BIBLIOGRAFÍA

- Calderón, G.E., Provencal, M.C., Martín, M.L., Britos Hoyos, D.M., García, J.B., Gonzales, R.E., Levis, S. **“Cocirculación del virus Junín y otros mammarenavirus en áreas geográficas sin casos confirmados de fiebre hemorrágica”**. *Medicina* (Buenos Aires). 2022. <https://www.medicinabuenosaires.com/PMID/35639054.pdf>.
- Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe. **“Fiebre Hemorrágica Argentina”**. Gobierno de la Provincia de Santa Fe. 2025. [https://www.santafe.gov.ar/index.php/web/content/view/full/144636/\(subtema\)/93802](https://www.santafe.gov.ar/index.php/web/content/view/full/144636/(subtema)/93802).
- Sociedad Argentina de Vacunología y Epidemiología (SAVE). **“Fiebre Hemorrágica Argentina – Vacuna Candid #1”**. 2022. <https://save.org.ar/wp-content/uploads/2019/07/Documento-Posicion-Fiebre-Hemorragica-Argentina-.pdf>.
- Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. **“Clase: Fiebre Hemorrágica Argentina”**. Rosario, Argentina. 2024.
- Presidencia de la Nación / Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas “Dr. Julio I. Maiztegui” – ANLIS Malbrán. **“Fiebre Hemorrágica Argentina: refuerzan la importancia de la donación de plasma inmune”**. 2025. <https://www.argentina.gob.ar/noticias/fiebre-hemorragica-argentina-refuerzan-la-importancia-de-la-donacion-de-plasma-inmune>.

ESTUDIO DE CASO CLÍNICO DE FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA: DIAGNÓSTICO, EVOLUCIÓN Y TRATAMIENTO.

Klotz, Luciana Inés¹; Ponzelli, Nadia Natalí¹; Malandra, Rocío²; Bo, Graciela³

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario.
²CEREMIC (Centro de Referencia de Micología), Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario.
³Hospital San Felipe, San Nicolás de los Arroyos.

INTRODUCCIÓN

La FHA es una enfermedad viral causada por el virus Junín (familia Arenaviridae). Estos virus infectan a un número limitado de especies de roedores (Calomys musculinus principalmente), los cuales eliminan el virus a través de saliva, orina y sangre. El hombre se infecta por inhalación de aerosoles provenientes de estas excretas o por contacto de las mismas con pequeñas excoriaciones de piel o mucosas. La transmisión interhumana es muy infrecuente.

CASO SOSPECHOSO

- ➔ Síndrome febril inespecífico
- ➔ Recuento de glóbulos blancos menor o igual a 400/mm³
- ➔ Recuento de plaquetas menor a 100000/mm³
- ➔ Residir/visita a área endémica

LABORATORIO EN LA FASE AGUDA

- ➔ Leucopenia (~1.000 - 2.000/ml)
- ➔ Plaquetopenia (50.000 - 100.000/ml)
- ➔ Proteinuria, hematuria y cilindros hialinos en sedimento
- ➔ Elevadas citosinas

CASO CLÍNICO

Paciente femenina de 58 años de edad, ama de casa, sin antecedentes de relevancia. Consulta por un cuadro de 7 días de evolución con **astenia marcada, fiebre, mialgias, decaimiento general y náuseas**. Se solicita laboratorio que evidencia bicitopenia. Debido a la falta de mejoría y el contexto epidemiológico, se sospecha FHA.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

- ➔ Prueba rápida para dengue: detección de anticuerpos IgG e IgM, ag NS1 ⊖
- ➔ RT-PCR real time ⊕

ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS

- ➔ Ecografía abdominal
- ➔ Rx de tórax



EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE LABORATORIO DURANTE LA PRIMERA INTERNACIÓN

Evolución del recuento de plaquetas durante la internación

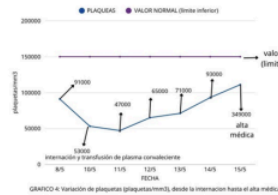


GRÁFICO 1: Variación de los niveles de plaquetas (plaquetopenia), desde la internación hasta el alta médica

Evolución de la actividad sérica de GPT durante la internación

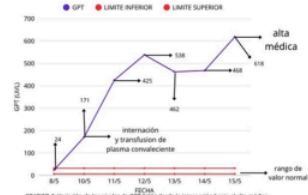


GRÁFICO 2: Variación de los niveles de GPT (GPT) desde la internación hasta el alta médica

Evolución del recuento de leucocitos durante la internación

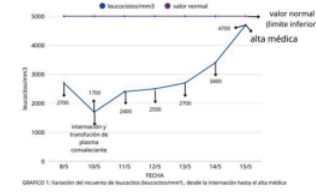


GRÁFICO 3: Variación del recuento de leucocitos (leucopenia), desde la internación hasta el alta médica

Evolución de los niveles de GOT (U/L) durante la internación

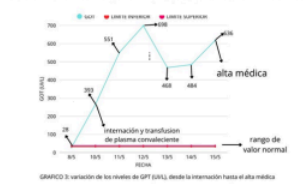


GRÁFICO 4: Variación de los niveles de GOT (GOT) desde la internación hasta el alta médica

TRATAMIENTO

Administración de plasma convaleciente. La paciente presenta mejoría en los valores de laboratorio tras la transfusión, sin embargo se presenta en el hospital 38 días después con náuseas, nistagmus, somnolencia y temblores

SÍNDROME NEUROLÓGICO TARDÍO

- ➔ EVALUACIÓN CLÍNICA COMPLETA
- ➔ ANÁLISIS DE LABORATORIO
- ➔ DIAGNÓSTICO POR IMÁGENES

TRATAMIENTO SINTOMÁTICO CON EVOLUCIÓN CLÍNICA FAVORABLE. TRAS LA RESOLUCIÓN DEL CUADRO, SE OTORGA EL ALTA CLÍNICA.

CONCLUSIONES

Este caso demuestra la importancia de la sospecha clínica temprana y del trabajo interdisciplinario en el manejo de la Fiebre Hemorrágica Argentina. La confirmación por RT-PCR y la administración oportuna de plasma de convaleciente permitieron una evolución favorable, acorde a lo esperado para la enfermedad. La aparición de un síndrome neurológico tardío, complicación conocida del tratamiento, resalta la necesidad de un seguimiento adecuado tras el alta.

El **rol del laboratorio bioquímico** fue clave para orientar el diagnóstico, evaluar gravedad y acompañar la evolución clínica. A nivel sanitario, la vacunación con Candid #1 continúa siendo la herramienta más efectiva para reducir la incidencia, prevenir brotes y proteger a la población en riesgo.

PERSPECTIVAS

La experiencia obtenida subraya la importancia de consolidar estrategias de vigilancia y control en zonas endémicas, garantizando circuitos diagnósticos ágiles y articulados entre los distintos niveles de atención. Resulta prioritario avanzar en protocolos estandarizados de seguimiento clínico, que permitan monitorear de manera sistemática a los pacientes tras el alta y unificar criterios frente a eventuales complicaciones neurológicas. Asimismo, la promoción activa de la vacunación y la educación comunitaria, junto con acciones de control ambiental, constituyen pilares para disminuir la circulación viral. Finalmente, fomentar la disponibilidad de plasma de donantes recuperados continúa siendo una herramienta estratégica dentro del abordaje integral de la FHA.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA

2025

Evaluación del control de calidad interno y externo
en el área de Química Clínica del laboratorio del
CEMAR

Autores

- Forni, Valentina
- Munarriz, Josefina
- Telleria, Pedro

Institución de rotación

- Laboratorio del Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR)

Coformadoras

- Turdo, Viviana
- Acebal, Stella

Tutoras

- Diviani, Romina
- Marti, Belén

PRESENTACIÓN

El presente trabajo aborda la implementación y gestión de los controles de calidad, tanto internos como externos, en el sector de Química Clínica del laboratorio del Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR). Asimismo, se analizan las decisiones que se toman a partir de los resultados obtenidos mediante dichos controles.

El CEMAR constituye un componente clave dentro del sistema de atención sanitaria de la ciudad, brindando servicios con un alto nivel de especialización y respaldo tecnológico. Su función principal es actuar como nexo entre los centros de atención primaria y los hospitales de mayor complejidad. Recibe muestras biológicas de pacientes derivados de centros de salud municipales y provinciales, así como de hospitales de la región que requieren atención de segundo nivel. Este elevado flujo de muestras refuerza la importancia de garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados generados en el laboratorio.

Como ejemplo práctico del proceso de control de calidad (CC), este trabajo se enfocará en el analito colesterol total (CHOL), describiendo los procedimientos aplicados y las decisiones que se toman en función de su monitoreo. Se seleccionó este analito por su importancia clínica en el diagnóstico y seguimiento de dislipidemias y enfermedades cardiovasculares, y por su presencia habitual en los perfiles lipídicos de rutina.

MARCO TEÓRICO

Los laboratorios clínicos cumplen un rol fundamental en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de enfermedades. Para garantizar resultados clínicamente útiles, los procedimientos analíticos deben ser precisos, exactos, trazables y comparables entre laboratorios. Esto requiere el cumplimiento de estándares definidos y la implementación de sistemas de CC que permitan detectar y minimizar errores, asegurar la validez de los procesos y mejorar continuamente el desempeño.

Según la norma ISO 9000:2000, la calidad se define como *“el grado en que un conjunto de características inherentes cumple con los requisitos”*. En este contexto, el sistema de CC permite monitorear el funcionamiento del laboratorio, tomar decisiones oportunas, asegurar la confiabilidad de las determinaciones y contribuir a una atención médica segura y eficaz.

El CC en el laboratorio clínico constituye un pilar fundamental para asegurar la confiabilidad, precisión y exactitud de los resultados analíticos. Su adecuada implementación permite detectar errores, prevenir la liberación de resultados incorrectos y garantizar una atención segura y efectiva al paciente. En este contexto, se reconocen dos tipos principales de estrategias: el **control de calidad interno** (CCI) y el **control de calidad externo** (CCE).

Control de Calidad Interno (CCI)

El CCI es un procedimiento que se realiza de forma rutinaria dentro del laboratorio con el objetivo de monitorear el desempeño del sistema analítico. Consiste en analizar materiales de control con concentraciones conocidas de uno o más analitos, en condiciones similares a las de las muestras de los pacientes, para verificar la estabilidad del sistema y la validez de cada corrida analítica. Su aplicación permite identificar errores aleatorios, como burbujas en los sistemas hidráulicos o interferencias mecánicas.

Existen dos modalidades de CCI: con gestión interna, en la cual el procesamiento estadístico de los resultados se realiza exclusivamente con los datos generados por el propio laboratorio; y con gestión externa, donde se comparan los resultados del laboratorio con los de otros laboratorios que utilizan el mismo material y metodología, conformando un *grupo peer*. Este modelo proporciona datos como media, desviación estándar y coeficiente de variación del grupo, pero no reemplaza al CCE, ya que no utiliza muestras ciegas ni independientes. Esta agrupación entre laboratorios permite generar promedios específicos y límites de aceptación más realistas que los establecidos por el fabricante.

Los resultados del CCI se representan mediante **gráficos de Levey-Jennings** (Figura 1), en los cuales los valores obtenidos se comparan con una media esperada

y se interpretan en función de las desviaciones estándar (DS). Estas gráficas permiten visualizar de forma clara la dispersión de los resultados en relación con la media establecida, así como su proximidad a los límites de control situados a ± 1 , ± 2 y ± 3 DS. A estas gráficas se les aplican las **reglas de Westgard**, que ayudan a decidir si una corrida es válida o si debe repetirse. Algunas de las reglas más comunes incluyen:

- **1-2s**: señal de alerta si un resultado supera 2 DS.
- **1-3s**: rechazo si supera 3 DS.
- **2-2s**: rechazo si dos resultados consecutivos superan 2 DS del mismo lado.
- **R-4s**: identifica errores aleatorios si hay una diferencia de 4 DS entre dos controles consecutivos.
- **4-1s**: indica error sistemático si cuatro valores consecutivos están del mismo lado y a más de 1 DS.

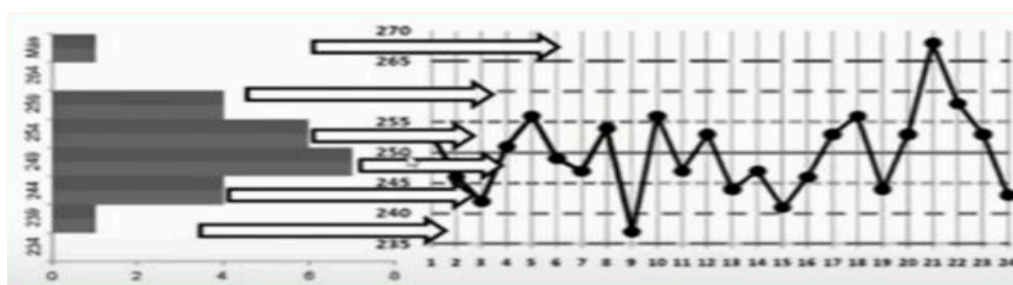


Figura 1. Gráfico de Levey-Jennings

Requisitos de Calidad y Variabilidad Biológica

Para interpretar adecuadamente los resultados del CC, deben establecerse criterios de aceptabilidad basados en objetivos de calidad. En el CEMAR, estos objetivos se determinan principalmente a partir de la **variabilidad biológica (VB)** de los analitos, considerando tanto la variación intraindividual como interindividual. Este enfoque se considera clínicamente relevante, ya que permite definir márgenes de error admisibles con base en la fisiología del paciente.

La VB también respalda el uso del **Z-score**, una métrica que cuantifica la desviación de un valor con respecto a la media, expresada en unidades de DS. Esta herramienta es ampliamente utilizada en programas de intercomparación para evaluar el desempeño de un laboratorio en relación con sus pares. Para que un resultado sea considerado aceptable, el valor de z-score debe encontrarse dentro del rango de ± 2 . Si el z-score, que representa la relación entre el valor obtenido y el valor del grupo, supera este umbral o se acerca a él, el resultado se considera no conforme. En tal caso, se procede a calibrar el analito y repetir la determinación, con el fin de verificar si el DS ha sido corregido.

Control de Calidad Externo (CCE)

El CCE es una herramienta complementaria al CCI, basada en la comparación de resultados entre laboratorios mediante la participación en programas de evaluación externa. Se utilizan muestras ciegas, es decir, de valor desconocido para el analista, que deben ser procesadas de la misma manera que una muestra de paciente. Estas estrategias permiten estimar el error total (imprecisión + sesgo) del sistema analítico, evaluar el desempeño global del laboratorio, detectar desviaciones sistemáticas y promover la armonización interlaboratorial. Además, son requeridos por normas internacionales como UNE-EN ISO 15189 y UNE-EN ISO 9001, siendo herramientas clave en procesos de acreditación.

Modelo Six Sigma

Como complemento a los sistemas tradicionales de control, algunos laboratorios incorporan herramientas de gestión de calidad como el **modelo Six Sigma**. Esta metodología cuantifica el desempeño de un proceso en términos del número de defectos por millón de oportunidades. Un sistema analítico que alcanza el nivel 6 sigma presenta apenas 3,4 errores por millón de resultados, lo cual representa un estándar de excelencia.

Método de análisis para Colesterol Total

En el CEMAR la determinación de CHOL se realiza mediante el método enzimático colorimétrico, utilizando un autoanalizador Roche Cobas (modelo C501), con reactivos provistos por la misma línea comercial. El fundamento del método se basa

en la reacción de colesterol con colesterol oxidasa y peroxidasa, generando un producto coloreado proporcional a la concentración del analito. Para el CCI se emplean materiales de control multi analitos proporcionados por Roche, en dos niveles: uno correspondiente a valores dentro del rango de referencia (nivel 1) y otro con valores patológicos (nivel 2). Los controles se procesan al menos una vez por día y se grafican en el sistema Levey-Jennings incorporado al software del equipo.

RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el sector de Química Clínica del CEMAR se realiza rutinariamente un CCI con el objetivo de asegurar la confiabilidad y precisión de los resultados emitidos. Este proceso incluye el análisis de diversos analitos bioquímicos séricos.

Para cada uno de estos analitos, se analizan diversos parámetros estadísticos que permiten evaluar el desempeño del sistema analítico y detectar de forma oportuna cualquier desviación que pudiera comprometer la calidad de los resultados. Estos parámetros incluyen la media, la desviación estándar (SD), el número de datos analizados (N), el coeficiente de variación (CV), el coeficiente de variación intraindividual (CVI), el porcentaje de diferencia (Diff%), el sesgo, el índice de desviación estándar (SDI) y los límites inferior y superior (LI/LS). La revisión constante de estos indicadores permite mantener el control y la estabilidad de los procesos, brindando así resultados confiables para la toma de decisiones clínicas.

Se analizaron los resultados correspondientes a los CCI de CHOL durante un mes, entre mayo y junio, totalizando 30 determinaciones tanto para el nivel 1 como para el nivel 2. La validación de cada corrida diaria se realiza a través de la gráfica multinivel (Figura 2) y del reporte diario, que muestra los valores obtenidos en el día. Además, el sistema permite acceder al reporte mensual, que resume el comportamiento del control a lo largo del período evaluado. El programa de calidad con que se trabaja es el Navify de Roche.

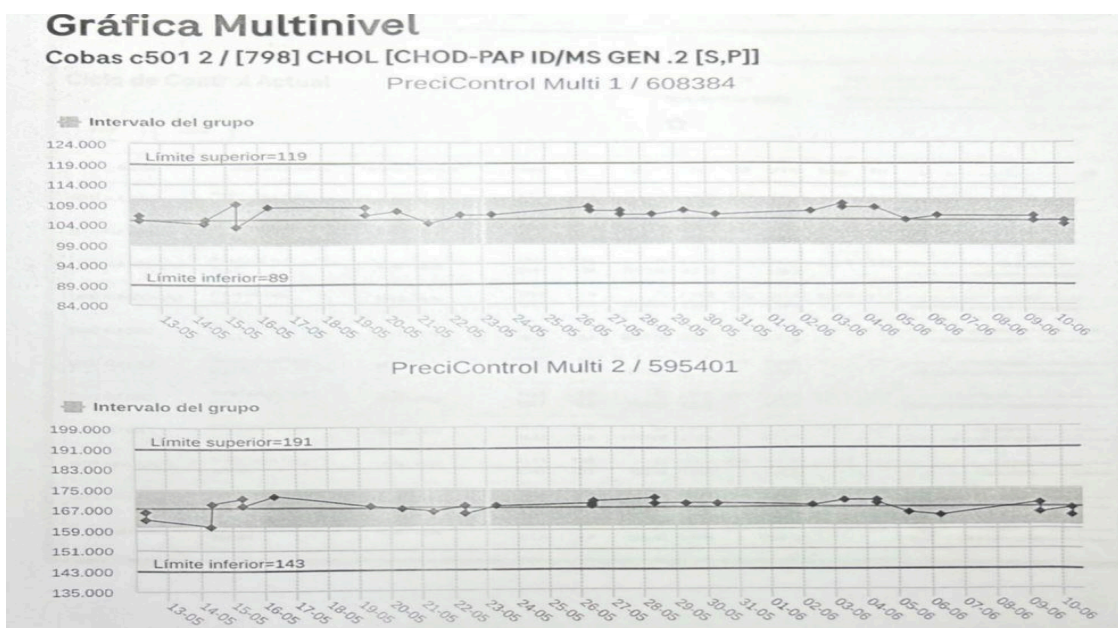


Figura 2. Gráfica multinivel CHOL

La Figura 2 muestra la evaluación diaria y multinivel correspondiente al CHOL, donde se visualizan los valores obtenidos para el nivel 1 y el nivel 2 del CCI. Cada punto representa una medición diaria del CCI, y se encuentran delimitados por los límites superior e inferior establecidos por el fabricante (119 y 89 mg/dL para Multi 1; 191 y 143 mg/dL para Multi 2). La franja gris central representa el intervalo aceptable de variación, definido como la media $\pm$ 2 desviaciones estándar.

Se observa que tanto los valores obtenidos para el nivel 1 como para el nivel 2 se encuentran dentro de los límites permitidos, no se detectan tendencias, desplazamientos ni resultados fuera de rango, lo que indica que el sistema de medición es estable. Esto garantiza la validez de los resultados reportados para CHOL en muestras de pacientes.

En la siguiente figura (Figura 3) se resumen los datos obtenidos para el CCI del analito CHOL, incluyendo la media del laboratorio, la media del grupo (*peer group*), el valor diana y sus respectivos intervalos, lo cual permite analizar la precisión y exactitud del sistema analítico empleado.

	Material de control: [608384] PCM1	[595401] PCM2
Valores predefinidos	Valor diana: 104.0 mg/dL Intervalo: 89.0 - 119.0 mg/dL	167.0 mg/dL 143.0 - 191.0 mg/dL
Valores de laboratorio	Período de evaluación: 5/11/2025 - 6/10/2025 Media: 106.2 mg/dL Intervalo: 101.7 - 110.8 mg/dL Desviación estándar: 1.52 Número: 30 CV: 1.43%	5/11/2025 - 6/10/2025 167.6 mg/dL 159.6 - 175.6 mg/dL 2.66 30 1.59%
Evaluación de grupo	Período de evaluación: 5/1/2025 - 6/10/2025 Media: 104.9 mg/dL Intervalo: 99.2 - 110.6 mg/dL Desviación estándar: 1.90 Número / Laboratorios: 106 / 4 CV: 1.81% Desviación del Grupo: 1.28%	4/1/2025 - 6/10/2025 167.5 mg/dL 160.4 - 174.6 mg/dL 2.37 50 / 2 1.41% 0.04%

Figura 3. Evaluación del desempeño del método para CHOL mediante gráfica multinivel.

El valor diana establecido es de 104,0 mg/dL, determinado por Roche a partir de un valor consensuado entre nueve laboratorios. Este valor actúa como referencia para evaluar la exactitud del método aplicado. Durante el período de evaluación (11/05/2025 al 10/06/2025), el laboratorio obtuvo una media de 106,2 mg/dL, con una desviación estándar de 1,52 mg/dL y un coeficiente de variación (CV) de 1,43%, lo que indica una buena precisión del sistema analítico. A su vez, se presenta la evaluación del grupo comparativo (*peer group*), que reúne los datos de cuatro laboratorios (106 resultados en total), con una media de 104,9 mg/dL, muy cercana al valor diana. Esta concordancia entre los tres valores (media del laboratorio, valor diana y valor del grupo) refleja una buena exactitud y comparabilidad interlaboratorio.

En el método utilizado para la determinación de CHOL, se obtuvo un valor Sigma de 9,9, lo cual lo ubica dentro del rango de excelencia analítica (≥ 6). Este resultado indica un proceso altamente confiable, con un error total mínimo y una elevada calidad analítica.

El valor Sigma es un indicador del desempeño de un método, que combina el error total permitido, el sesgo y la imprecisión. Según este enfoque, los métodos se clasifican en distintas categorías de calidad:

- **≥6 Sigma:** Excelencia analítica; requiere control de calidad mínimo y presenta errores muy poco frecuentes.
- **5–5,9 Sigma:** Muy bueno. Bajo riesgo de error.
- **4–4,9 Sigma:** Aceptable. Puede requerir controles más estrictos.
- **3–3,9 Sigma:** Marginal. Necesita vigilancia continua.
- **<3 Sigma:** No aceptable. Alto riesgo de error, el método debe ser reevaluado.

Esta clasificación se representa gráficamente en el gráfico de punto operativo (Figura 4), el cual permite visualizar el rendimiento del método dentro de una escala de aceptabilidad.

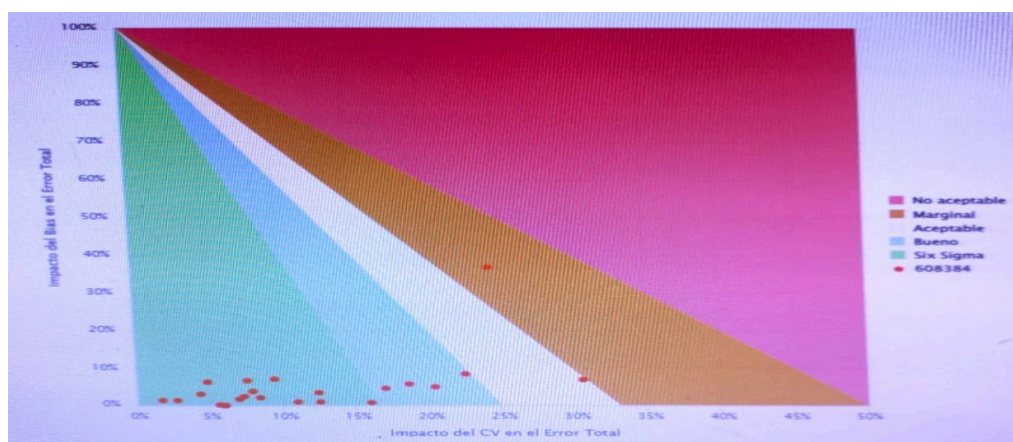


Figura 4. Diagrama de dispersión Six Sigma

En caso de que se detecte un valor fuera del rango aceptado, el sistema emite una alerta para evidenciar la anomalía, permitiendo que el bioquímico tome las medidas correctivas correspondientes. La primera acción que se implementa ante esta situación es la calibración del analito involucrado.

Un parámetro importante que permite detectar errores y decidir la calibración es el **Z-Score**. En la Figura 5 se puede observar, a modo de ejemplo, un valor obtenido de z-score de 2,1. En este caso, se debe rechazar el control y proceder a calibrar el analito.

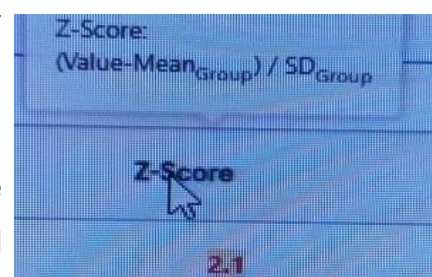


Figura 5. Ejemplo de Z-Score

En el CEMAR, el CCE se lleva a cabo principalmente mediante dos mecanismos: la participación en programas interlaboratorios y la realización de auditorías externas.

Por un lado, el laboratorio participa activamente en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC), coordinado por el CEMIC (Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno). Este programa consiste en el envío quincenal de muestras liofilizadas con valores desconocidos para los participantes. Dichas muestras son procesadas utilizando los mismos procedimientos aplicados a las muestras de pacientes. Posteriormente, los resultados obtenidos se remiten al CEMIC, donde se realiza un análisis estadístico comparativo con los resultados de otros laboratorios participantes y con valores de referencia establecidos. El CEMIC evalúa los resultados obtenidos a partir de la muestra incógnita y comunica, en el plazo aproximado de una semana, si el desempeño del laboratorio fue aceptable o no aceptable.

Además, el laboratorio es objeto de auditorías periódicas por parte de organismos externos como parte del proceso de certificación bajo la norma ISO 9001. Estas auditorías tienen como objetivo verificar el cumplimiento del sistema de gestión de la calidad, incluyendo la trazabilidad, la documentación de los procesos y el compromiso con la mejora continua.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El CC en el laboratorio clínico representa un pilar fundamental en la garantía de resultados confiables, que sustentan diagnósticos y tratamientos precisos.

La implementación diaria del CCI, demuestra un compromiso con la mejora continua y con los más altos estándares analíticos. La inclusión de herramientas como las gráficas de Levey-Jennings y las reglas de Westgard asegura que los errores puedan ser identificados tempranamente, evitando así la validación de resultados incorrectos. Este sistema estadístico aplicado a los resultados permite una gestión objetiva y medible de la calidad analítica. Además, el software Tiq Com actúa como una herramienta clave en la sistematización y análisis de datos de desempeño, permitiendo una visión integrada del rendimiento del laboratorio.

Por otra parte, los CCE constituyen una verificación adicional de calidad, aportando una perspectiva independiente y objetiva del funcionamiento del laboratorio. Si bien su impacto es retrospectivo, resulta crucial para validar la calidad global del sistema y garantizar el cumplimiento de estándares nacionales e internacionales.

Un sistema de calidad efectivo en un laboratorio clínico debe contemplar tanto CCI rigurosos como evaluaciones externas periódicas. Estos dos componentes se complementan entre sí y son indispensables para alcanzar una práctica bioquímica segura, confiable y alineada con la excelencia profesional.

PERSPECTIVAS

A lo largo de este trabajo pudimos observar cómo tanto el CCI como el CCE cumplen un rol central en el funcionamiento diario del laboratorio clínico. Esta experiencia nos permitió comprender que el CC no es sólo una exigencia técnica, sino una parte esencial del trabajo bioquímico. Involucra responsabilidad, criterio profesional y capacidad de respuesta ante situaciones que podrían afectar directamente la calidad del diagnóstico.

El modelo Six Sigma, aunque es exigente, representa una meta deseable para laboratorios de alta complejidad como el CEMAR, que ya cuentan con equipamiento avanzado y software de monitoreo.

Una línea de trabajo futura debería enfocarse en digitalizar por completo el proceso de control de calidad, con acceso en tiempo real a métricas, alarmas automáticas y trazabilidad de acciones correctivas. También es clave capacitar continuamente al personal en aspectos técnicos y estadísticos, promoviendo la mejora continua. Finalmente, se propone fortalecer la participación en redes interinstitucionales para comparar datos entre laboratorios y armonizar resultados.

El desafío es evolucionar hacia un sistema de control de calidad predictivo, que no solo detecte errores, sino que los anticipe, con una visión integrada entre tecnología, recursos humanos y gestión basada en evidencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Torres Pons, N., Rosquete López, R., Torres Romo, B., & Carbajales León, I. (2007). Aseguramiento de la calidad en la etapa analítica en química clínica. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 11(6), 0-0.
- Prada, E., Blazquez, R., Gutiérrez-Bassini, G., Morancho, J., Jou, J. M., Ramón, F., ... & Salas, Á. (2016). Control interno de la calidad vs control externo de la calidad. *Revista del laboratorio clínico*, 9(2), 54-59.
- Céspedes Quevedo, M. C., Gondres Legró, K. M., Cuadra Brown, Y., & Mora González, C. A. (2022). Guía práctica para el perfeccionamiento del control interno de calidad en el laboratorio clínico. *Medisan*, 26(2), 455-474.
- Organización Internacional de Normalización (ISO). (n.d.). *Normas ISO 9001:2015. Sistemas de gestión de la calidad. Requisitos*.
https://www.iso.org/search.html?PROD_isoorg_en%5Bquery%5D=iso%209001
[1](#)
- Lioi, S. (2024). Control estadístico de calidad, Reglas de Westgard - Material de estudio de la cátedra de Química Analítica Clínica – FbioyF, UNR.
- *Cobas 6000 analyzer series*. (n.d.). Roche Diagnostics. Retrieved July 25, 2025, from
<http://diagnostics.roche.com/us/en/products/systems/cobas-6000-analyzer-series-sys-65.html>

EVALUACIÓN DEL CONTROL DE CALIDAD INTERNO Y EXTERNO EN EL ÁREA DE QUÍMICA CLÍNICA DEL LABORATORIO DEL CEMAR

Forni, Valentina¹; Munarriz, Josefina¹; Telleria, Pedro¹; Acebal, Stella²; Turdo, Viviana²; Diviani, Romina¹; Marti, Belén¹.

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Centro de Especialidades Médicas Ambulatorias de Rosario (CEMAR).

INTRODUCCIÓN

El trabajo aborda la implementación y gestión de los controles de calidad internos y externos en el área de Química Clínica del CEMAR. El objetivo principal fue evaluar la eficacia de los sistemas de control y su impacto en la calidad analítica. Se tomó como ejemplo el analito colesterol total (CHOL), describiendo su monitoreo y las decisiones derivadas del control.

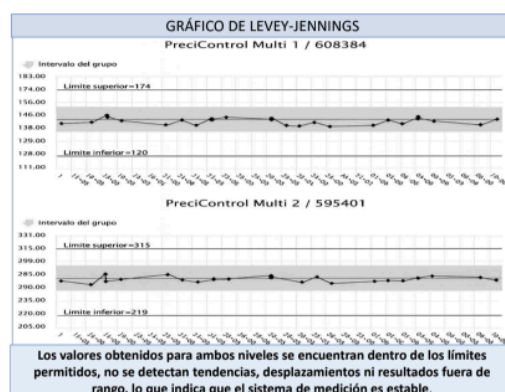
MARCO TEÓRICO

- Los controles de calidad son fundamentales para asegurar la **precisión y exactitud** de los resultados analíticos.
- CCI: controla el desempeño diario del sistema mediante materiales con concentraciones conocidas.
- CCE: compara resultados entre laboratorios con muestras ciegas, promoviendo la armonización interlaboratorial.
- Reglas de Westgard y gráficos de Levey-Jennings se usan para evaluar la validez de las corridas.
- Los objetivos de calidad se basan en la **variabilidad biológica** de cada analito.
- Se complementa con indicadores como el **modelo Six Sigma** el cual mide el desempeño global del sistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Se analizaron los resultados correspondientes a los CCI de CHOL durante un mes, entre mayo y junio, totalizando 30 determinaciones.
- Método:** Enzimático colorimétrico – autoanalizador Roche Cobas C501.
 - Controles:** multi-analitos Roche, niveles 1 (normal) y 2 (patológico).
 - Frecuencia:** control diario, revisión mensual mediante software Navify.
 - CCE:** participación en PEEC (CEMIC) y auditorías ISO 9001.

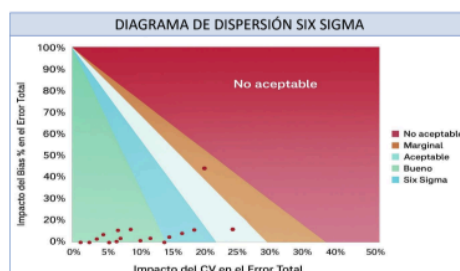
RESULTADOS



DESEMPEÑO DEL MÉTODO

CEMAR		Sistema Siro	
Material de control (Siro) PreciControl Multi 1		Material de control (Siro) PreciControl Multi 2	
Análisis: CHOL (mg/dL) - 100-200 mg/dL (Rn 1.5/1.5)		Análisis: CHOL (mg/dL) - 100-200 mg/dL (Rn 1.5/1.5)	
Material de control:	100.00 (Rn 1.5/1.5)	100.00 (Rn 1.5/1.5)	100.00 (Rn 1.5/1.5)
Valores producidos			
Valor d'uso	100.00 mg/dL	100.00 mg/dL	100.00 mg/dL
Intervalo	97.8 - 102.2 mg/dL	97.8 - 102.2 mg/dL	97.8 - 102.2 mg/dL
Valores de laboratorio			
Período de evaluación:	5/1/2023 - 6/1/2023	5/1/2023 - 6/1/2023	5/1/2023 - 6/1/2023
Media	100.2 mg/dL	100.2 mg/dL	100.2 mg/dL
Intervalo	99.1 - 101.3 mg/dL	99.1 - 101.3 mg/dL	99.1 - 101.3 mg/dL
Desviación estándar	1.02	1.02	1.02
Número	30	30	30
CV	1.02%	1.02%	1.02%
Evaluación de grupo			
Período de evaluación:	5/1/2023 - 6/1/2023	5/1/2023 - 6/1/2023	5/1/2023 - 6/1/2023
Media	100.2 mg/dL	100.2 mg/dL	100.2 mg/dL
Intervalo	99.1 - 101.3 mg/dL	99.1 - 101.3 mg/dL	99.1 - 101.3 mg/dL
Desviación estándar	1.02	1.02	1.02
Número / Laboratorio	30 / 1	30 / 1	30 / 1
CV	1.02%	1.02%	1.02%
Desviación del Grupo	1.02%	1.02%	1.02%

Hay una concordancia entre los tres valores (media del laboratorio, valor diana y valor del grupo), lo cual refleja una buena exactitud y comparabilidad interlaboratorio.



Se obtuvo un valor Six Sigma de 9,9, lo cual lo ubica dentro del rango de excelencia analítica (≥ 6) **EXCELENTE DESEMPEÑO**

Este resultado indica un proceso altamente confiable, con un error total mínimo y una elevada calidad analítica.

CONCLUSIONES

- El CC es un pilar fundamental en la garantía de resultados confiables, que sustentan diagnósticos y resultados precisos.
- El CCI diario permite detectar y corregir errores antes de liberar resultados.
- El CCE constituye una verificación adicional de calidad, aportando una perspectiva independiente y objetiva del funcionamiento del laboratorio.
- Un sistema de calidad efectivo en un laboratorio clínico debe contemplar tanto CCI rigurosos como evaluaciones externas periódicas. Estos dos componentes se complementan entre sí y son indispensables para alcanzar una práctica bioquímica segura, confiable y alineada con la excelencia profesional.
- El modelo Six Sigma, aunque es exigente, representa una meta deseable para laboratorios de alta complejidad como el CEMAR, que ya cuentan con equipamiento avanzado y software de monitoreo.

PERSPECTIVAS

El CC no es sólo una exigencia técnica, sino una parte esencial del trabajo bioquímico. Involucra responsabilidad, criterio profesional y capacidad de respuesta ante situaciones que podrían afectar directamente la calidad del diagnóstico. Una línea de trabajo futura debería enfocarse en digitalizar por completo el proceso de control de calidad, con acceso en tiempo real a métricas, alarmas automáticas y trazabilidad de acciones correctivas.

Métodos automatizados de identificación
bacteriana y sensibilidad a los antimicrobianos en
el laboratorio de microbiología clínica.

Autores: Fortuna Florencia, Tassano Josefina.

Tutor: Marchiaro Patricia.

Institución de rotación: CIBIC Rosario.

I) Presentación

La microbiología clínica desempeña un papel fundamental en la detección y caracterización de agentes infecciosos, permitiendo la instauración de tratamientos específicos y mejorando los resultados clínicos de los pacientes. La rapidez y precisión en la identificación microbiológica, así como en la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos (ATM), son elementos esenciales para una adecuada toma de decisiones terapéuticas (4). En este contexto, la incorporación de tecnologías automatizadas como la espectrometría de masas MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight*) para la identificación rápida, y sistemas fenotípicos multipruebas como VITEK 2 Compact (VITEK 2C) para la identificación y la determinación de la sensibilidad a los antibióticos, han generado un impacto positivo en la eficiencia y confiabilidad del diagnóstico microbiológico (4).

Este trabajo tiene como objetivo describir la implementación de estos sistemas automatizados en el laboratorio de microbiología clínica, comparando sus ventajas y limitaciones frente a metodologías tradicionales. A modo de ejemplo se describe aquí el procesamiento de muestras clínicas de orina y sangre en el área de microbiología del laboratorio Cibic, un centro de alta complejidad donde realizamos las Prácticas Profesionales Obligatorias.

II) Marco Teórico

II.1. Identificación de microorganismos

Una identificación bacteriana rápida y precisa es esencial para el diagnóstico microbiológico, ya que influye directamente en la interpretación de los ensayos de sensibilidad a los ATM y en la detección de mecanismos de resistencia para una correcta decisión terapéutica. Esto resulta clave en el pronóstico de pacientes críticos, cuyo tratamiento depende del inicio precoz del antimicrobiano adecuado. Por ello, el laboratorio debe garantizar una identificación microbiana confiable y oportuna, junto con informes de sensibilidad estandarizados y reproducibles (2). El laboratorio de microbiología emplea diversas metodologías para el diagnóstico de agentes bacterianos infecciosos, entre las que se incluyen los métodos fenotípicos convencionales y automatizados, los basados en el análisis proteómico, técnicas inmunológicas rápidas y métodos moleculares (4).

II.1.a. Métodos fenotípicos tradicionales

En el enfoque fenotípico tradicional, la identificación bacteriana se ha basado en la siembra en medios de cultivo y en la evaluación de características morfológicas de las colonias, tinción de Gram, y pruebas bioquímicas y metabólicas. En este proceso, la experiencia del bioquímico resulta fundamental para seleccionar de forma secuencial las pruebas más confiables, el género o especie que se sospecha, el origen del aislamiento y el costo asociado (2). Si bien estos métodos son efectivos, presentan limitaciones: menor estandarización entre laboratorios, resultados que pueden demorar de 24 a 48 hora e incluso días, cierta subjetividad en la interpretación y dificultad para identificar con precisión algunos microorganismos debido a similitudes fenotípicas o requerimientos bioquímicos poco habituales (2).

II.1.b. Métodos fenotípicos automatizados

Con el fin de conseguir una mayor rapidez y estandarización en la identificación bacteriana, los métodos fenotípicos evolucionaron hacia sistemas multipuebas que permiten evaluar simultáneamente diversas reacciones bioquímicas en un único formato estandarizado, generando un patrón o perfil bioquímico característico (2). Dicho perfil se compara con bases de datos de referencia para determinar la identidad del microorganismo analizado.

Los sistemas multipuebas pueden ser: manuales, como los paneles API (bioMérieux), que utilizan la observación visual de cambios de pH o turbidez y requieren entre 24-48 horas; en estos métodos, los resultados positivos y negativos se expresan de forma numérica, generando un código que posteriormente es interpretado mediante un software específico, cuya base de datos requiere actualizaciones periódicas. Por otro lado, existen sistemas automatizados, como VITEK 2C (bioMérieux) o Phoenix (BD) que detectan variaciones de pH o actividad enzimática mediante sensores empleando tarjetas con micropruebas bioquímicas preestablecidas, cada una contiene una serie de sustratos que permiten evaluar el metabolismo bacteriano. Los resultados de estos sistemas automatizados se comparan con una base de datos digital que genera un perfil de identificación con distintos niveles de probabilidad, reduciendo los tiempos a 8–12 horas, representando una mejora significativa

respecto a los métodos manuales; aun así en caso de especies fenotípicamente similares se complementa el diagnóstico con otras pruebas bioquímicas adicionales. En ambos casos, es fundamental mantener condiciones estrictas de concentración del inóculo, inoculación, incubación y lectura, para la interpretación de los resultados (4).

II.1.c. Métodos proteómicos

La introducción de la espectrometría de masas MALDI-TOF ha revolucionado la microbiología clínica al permitir la identificación rápida y precisa de microorganismos mediante el análisis de sus perfiles proteicos en cuestión de minutos (2). Esta metodología ha demostrado un excelente desempeño en la identificación de bacterias gram-negativas y gram-positivas, micobacterias, levaduras y hongos filamentosos (7). Entre los sistemas disponibles se pueden incluir el VITEK MS (bioMérieux) y MALDI Biotyper (BD). Presentan limitaciones con microorganismos difíciles de lisar y con aquellos estrechamente relacionados genéticamente cuyos espectros de masas pueden ser similares, por lo que resulta necesario complementar el análisis con pruebas fenotípicas o moleculares. Además, es posible que los microorganismos a identificar no se encuentren representados en las bases de datos comerciales, por lo que se promueve la incorporación de nuevos espectros de referencia a las bases de datos institucionales (7).

Para acelerar la identificación de microorganismos puede emplearse el MALDI-TOF directamente de muestras clínicas, adelantando el diagnóstico entre 24 y 48 horas respecto al cultivo tradicional (1). Una de sus desventajas es que se requiere de una alta concentración bacteriana, y por otro lado las proteínas humanas o las infecciones polimicrobianas pueden causar interferencias en la interpretación del espectro. Su uso directo se restringe principalmente a frascos de hemocultivo positivos y a muestras de orina (1).

Otras de sus aplicaciones es la detección rápida de resistencias a los antimicrobianos, proporcionando resultados en pocas horas y complementando los métodos convencionales. Entre estas aplicaciones se incluyen la detección de la resistencia a través de la medida de la actividad enzimática, y detección de la resistencia a través del análisis del perfil proteico microbiano (7).

En Argentina, desde 2015, la Red Nacional de Identificación Microbiológica por Espectrometría de Masas (RENAEM) integra laboratorios públicos y privados que implementaron esta tecnología, con el objetivo de unificar metodologías y criterios de identificación, así como favorecer la integración y transferencia de conocimientos entre los distintos grupos de trabajo nacionales (3).

Procedimiento del sistema de espectrometría de masa

Inicialmente se deposita una colonia pura en una placa metálica, se recubre con una matriz orgánica como por ejemplo ácido α -ciano-4-hidroxicinámico, y se deja secar completamente. Luego se coloca la placa en el equipo donde es irradiada con un láser y las moléculas ionizadas generadas son aceleradas en un campo eléctrico y son detectadas según su tiempo de vuelo (6). El espectro generado se compara con una base de datos validada para asignar la identificación de género y especie en minutos (Fig. 1). Así, en VITEK MS el software compara el espectro obtenido con el espectro esperado de cada organismo o grupo de organismos contenido en la base de datos, obteniendo una identificación con un nivel de confianza que se calcula con base al porcentaje de probabilidad y el número de opciones de microorganismos posibles. El porcentaje de probabilidad se refiere a qué tanto el espectro observado se asemeja al espectro típico de cada organismo. El rango de probabilidades para una identificación correcta es 60-99% y valores cercanos a 99,9% indican una aproximación más exacta. Cuando el porcentaje de probabilidad es menor al 60% el microorganismo se considera como no identificado.

Por su lado, el software del sistema MALDI Biotyper analiza los picos espectrales obtenidos y tras la comparación con los picos de la base de datos, provenientes de cepas de referencia, y se obtiene un score. De este modo, el valor del score (puntuación) obtenido permite definir la especie como “altamente probable” (i.e. score entre 2,300-3,000); el género como “seguro” y la especie “probable” (i.e. score entre 2,000-2,299); el género como “probable” (i.e. score entre 1,700-1,999), o la identificación bacteriana como “no confiable” (i.e. score < 1,699). Asimismo, para cada identificación el sistema otorga una categoría (A, B, o C), según la consistencia o confiabilidad de la misma. Entre estas, categoría A indica que la identificación a nivel de especie es confiable; categoría B, sólo el género es confiable; y categoría C, género y especie son no confiables.

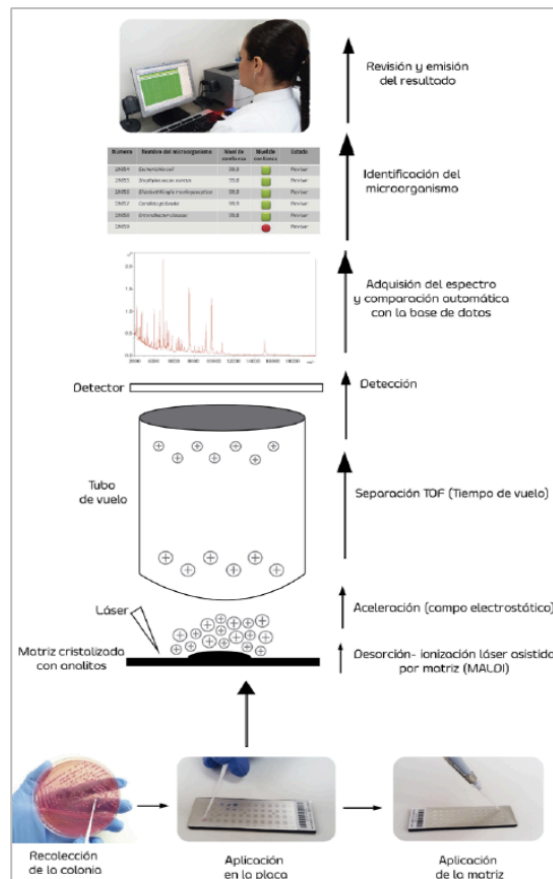


Figura 1. Representación esquemática de los procesos de identificación mediante MALDI-TOF MS.
Figura adaptada (6)

II.1.d. Métodos moleculares

Se basan en el análisis del material genético microbiano permitiendo identificar agentes infecciosos incluso cuando el cultivo es difícil de realizar (4). Presentan alta sensibilidad y especificidad, superando las limitaciones de los métodos fenotípicos, aunque su implementación requiere equipamiento costoso, personal especializado y estrictas condiciones de control. Entre sus estrategias hay sistemas automatizados de diagnóstico molecular sindrómico (FilmArray de bioMérieux) que emplea paneles de PCR *multiplex* para detectar simultáneamente múltiples patógenos asociados a un mismo cuadro clínico como Panel Respiratorio, Panel de Neumonía, Panel sepsis, Panel gastrointestinal, y Panel Meningitis. Además, otras de las metodologías moleculares es la secuenciación del genoma completo utilizando secuenciadores de última generación, el cual está limitado a laboratorios especializados (2).

II. 2. Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos

Es esencial para seleccionar el tratamiento adecuado y detectar mecanismos de resistencia con relevancia clínica y epidemiológica, como Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) o productoras de carbapenemasas; Enterococos resistentes a vancomicina, Estafilococos resistentes a meticilina, entre otros.

Tradicionalmente, la sensibilidad antimicrobiana se determina por métodos manuales, como la difusión en agar (Kirby-Bauer), los cuales, aunque confiables y validados, resultan laboriosos y lentos (al menos 24 horas), retrasando el inicio del tratamiento adecuado (4).

En la actualidad, la implementación de sistemas automatizados, como VITEK 2C (bioMérieux) o Phoenix (BD), diseñados para la identificación bacteriana y la determinación de la sensibilidad a los ATM, han reemplazado en gran medida a los métodos manuales. Estos permiten obtener resultados más rápidos, entre 6-10 horas, reproducibles y estandarizados, lo que optimiza la selección terapéutica y el seguimiento epidemiológico de la resistencia bacteriana. No obstante, presentan limitaciones, como su alto costo de adquisición y mantenimiento, la necesidad de calibraciones periódicas y la posible menor sensibilidad frente a ciertos mecanismos de resistencia poco frecuentes (4).

El sistema VITEK 2C se basa en la microdilución en caldo en formato miniaturizado, utilizando tarjetas que contienen múltiples pocillos con concentraciones definidas de antibióticos. El sistema evalúa el crecimiento bacteriano en cada pocillo y determina la concentración inhibitoria mínima (CIM) clasificando al microorganismo como sensible, intermedio o resistente de acuerdo con guías internacionales como CLSI o EUCAST (5).

El procedimiento para la determinación de la sensibilidad a ATM mediante el sistema VITEK 2C se realizará siguiendo las recomendaciones del fabricante (bioMérieux).

El procesamiento comienza con la preparación de una suspensión bacteriana ajustada al estándar 0,5 McFarland mediante un densitómetro. Posteriormente, se diluye según instrucciones del fabricante y la suspensión se deposita en un tubo de inoculación, el cual se coloca en una gradilla con capacidad para quince muestras junto a la tarjeta de sensibilidad (AST). Luego, la gradilla se introduce en la *Prep Station*, donde el sistema realiza el llenado automático de la tarjeta por vacío. El equipo incuba las tarjetas a una temperatura de 35–37 °C en condiciones de aerobiosis, efectuando lecturas periódicas de turbidez. Finalmente, el

sistema calcula la CIM para cada ATM y genera el antibiograma. La elección de la tarjeta de sensibilidad en el sistema VITEK 2C depende del tipo de muestra y del microorganismo sospechado. Entre las más utilizadas se encuentran: **AST-N422** para bacilos gram-negativos en muestras de urocultivos, **AST-N421** para bacilos gram-negativos en muestras de infecciones sistémicas, **AST-P601** para bacilos gram-positivos no esporulados o anaerobios, **AST-GP653** para cocos gram-positivos, entre otras. La correcta selección del panel asegura que los resultados del antibiograma se ajusten al contexto clínico del paciente y permitan una interpretación confiable.

III) Diagnóstico microbiológico mediante sistemas automatizados: Resultados

Como parte de nuestra práctica, hemos realizado el procesamiento para diagnóstico microbiológico de distintas muestras clínicas, aplicando metodologías automatizadas. Este trabajo se realizó siguiendo los protocolos establecidos por el área de Microbiología del Laboratorio Cibic para cultivo, identificación bacteriana y sensibilidad a los ATM.

A continuación y a modo de ejemplo representativo de los procedimientos realizados, se presentan los resultados obtenidos a partir de muestras de orina y sangre derivadas de un sanatorio privado, correspondientes a un paciente internado que presentó diversos episodios infecciosos durante su estancia hospitalaria.

III.1. Procesamiento de muestras de orina

La muestra de orina de chorro medio fue recibida en frasco estéril y procesada dentro de las 2 horas de su recolección. El procesamiento consiste en centrifugar 10 mL de orina a 3.000 rpm durante 5 minutos y a partir del sedimento obtenido se realiza un examen directo donde en este caso se observó abundantes leucocitos, hematíes en cantidad moderada y escasa cantidad de células epiteliales, complementado con la tinción de Gram, donde se observó la presencia de bacilos Gram-negativos.

En paralelo se realiza una siembra cuantitativa, utilizando un ansa calibrada en un medio cromogénico CPS (CHROMID CPS® Elite, bioMérieux, Fig. 2) realizando tres toques seguidos de un estriado, y la placa se incubó en aerobiosis invertida a 35–37 °C durante 18–24 horas. Finalizado el período de incubación, se observaron colonias rosadas, hallazgo compatible con *Escherichia coli* (Fig. 3). El recuento cuantitativo, de acuerdo al volumen sembrado y el número de colonias desarrolladas fue mayor a 100.000 UFC/ml, interpretándose como

crecimiento monomicrobiano significativo y sugestivo de infección urinaria por este patógeno.

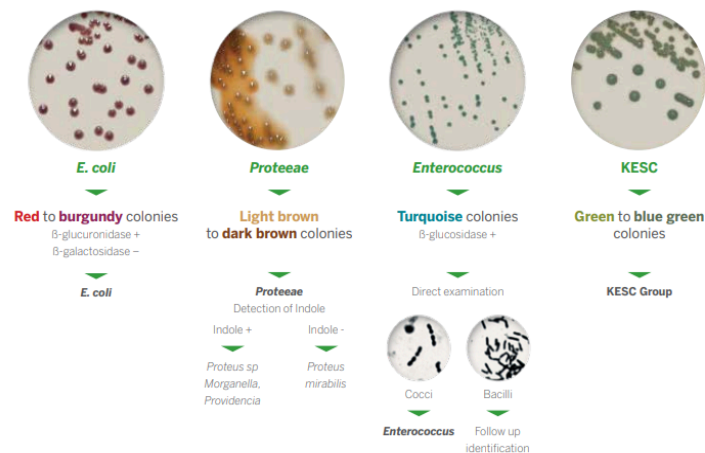


Figura 2. Aspecto de colonias bacterianas en medio cromogénico CHROMID CPS® Elite (bioMérieux). El agar cromogénico CPS es un medio selectivo y diferencial diseñado para el aislamiento e identificación presuntiva de *Escherichia coli*, así como para la diferenciación de otras enterobacterias como el grupo Proteaeae, el grupo KESC y cocos Gram-positivos (4). El principio de este medio se basa en la incorporación de sustratos cromogénicos que liberan un color específico cuando son hidrolizados por enzimas bacterianas características, como la β -glucuronidasa de *E. coli*, que produce colonias rosadas o rojizas. De este modo, el color resultante de las colonias refleja la actividad enzimática propia de cada microorganismo (4).

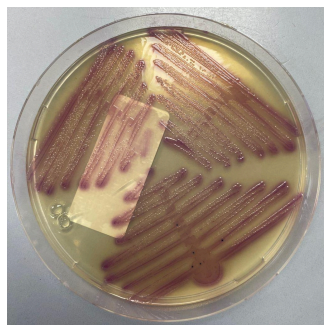


Figura 3. Crecimiento bacteriano en agar CPS. (Fortuna & Tassano, 2025).

A partir de una colonia del crecimiento monomicrobiano en el medio cromogénico, se procedió a realizar el estudio de sensibilidad antimicrobiana mediante el sistema automatizado VITEK 2C, empleando el panel AST-GN422. El aislamiento presentó sensibilidad a ertapenem (β -lactámico de la familia de los carbapenemes), amikacina, nitrofurantoína y fosfomicina. Se observó resistencia a la mayoría de los β -lactámicos ensayados, incluyendo ampicilina, cefalosporinas de primera a cuarta generación (cefazolina, ceftriaxona, ceftazidima y cefepime), e incluso a los ATB combinados con inhibidores de β -lactamasas (amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam), así como a ciprofloxacina,

gentamicina, trimetoprima/sulfametoxazol. Asimismo, el sistema detectó la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), hallazgo compatible con el perfil de resistencia observado.

III.2. Procesamiento de muestras de sangre

Las muestras de sangre se recibieron en dos frascos de hemocultivo y fueron incubadas en el sistema automatizado BACT/ALERT (bioMérieux), que permite la monitorización continua del crecimiento microbiano. La incubación se realiza a 36 ± 1 °C durante un período máximo de cinco días. Este sistema cuenta con celdas individuales provistas de agitación constante para favorecer la multiplicación bacteriana, y detecta el crecimiento midiendo la cantidad de CO₂ liberado por los microorganismos. La detección puede realizarse mediante métodos colorimétricos basados en el cambio de color en la base del frasco o por métodos fluorimétricos, que registran el nivel de fluorescencia emitida. Las principales ventajas de estos sistemas respecto a la metodología convencional son su mayor rapidez de detección, menor manipulación de las muestras, por lo tanto, menor riesgo de contaminación y monitoreo continuo (1).

Ambas muestras resultaron positivas antes de las 24 horas y a partir de ellas se procede a realizar una tinción de Gram directa, donde se observaron bacilos gram-negativos. Además, se realiza un subcultivo sembrando por técnicas de agotamiento en medios de cultivo agar sangre y agar chocolate, las placas se incuban invertidas a 35-37°C en atmósfera enriquecida con CO₂ durante 18-24 horas.

Tras aproximadamente 6 horas de incubación se evidenció el desarrollo de una pátina bacteriana uniforme (Fig. 4), sin llegar a un crecimiento total. Para agilizar los tiempos de detección se tomó una colonia la cual es suficiente para su posterior identificación microbiológica mediante sistema automatizado MALDI-TOF VITEK MS (bioMérieux).

A partir de la espectrometría de masas, se identificó el aislamiento bacteriano a nivel de especie como *Escherichia coli*.

Figura 4. Crecimiento bacteriano en placa de agar sangre (patina) (Fortuna & Tassano, 2025).



Luego de la identificación se realizó el análisis de sensibilidad antimicrobiana mediante el sistema VITEK 2C y el perfil de sensibilidad fue coincidente con el perfil realizado a partir del urocultivo. En conjunto, los resultados permiten concluir que la bacteriemia se originó a partir de un foco urinario. La coherencia entre los aislamientos obtenidos y la evolución clínica del paciente sostiene que la infección del tracto urinario constituyó el punto de partida del proceso infeccioso sistémico.

IV. Discusión y Conclusión

La integración de sistemas automatizados VITEK MS (MALDI-TOF) y VITEK 2C en microbiología clínica permite una identificación rápida y precisa de los microorganismos junto con la determinación de su perfil de sensibilidad a los ATM. Esta combinación optimiza los procesos del laboratorio, mejora la reproducibilidad, estandarización de los procedimientos y facilita decisiones terapéuticas más oportunas y acertadas, especialmente en pacientes críticos. Aunque su implementación requiere inversión, mantenimiento y calibración constante, la automatización representa un avance significativo frente a los métodos tradicionales, reduciendo tiempos de diagnóstico y mejorando la calidad de la atención clínica.

Es fundamental destacar que, si bien la automatización ha avanzado notablemente en la microbiología clínica, la experiencia y el juicio clínico del bioquímico siguen siendo esenciales para la interpretación adecuada de los resultados y la selección de los estudios complementarios necesarios en casos complejos o aislamientos poco comunes. En conjunto, la integración de estas herramientas tecnológicas con el conocimiento experto constituye un pilar fundamental para la mejora continua de la microbiología diagnóstica, promoviendo una atención más rápida, segura y eficiente en la atención de los pacientes.

V) Perspectivas

A partir de los resultados obtenidos, se observa la necesidad de avanzar hacia una consolidación integral de las tecnologías automatizadas en el diagnóstico microbiológico. La interconexión de sistemas como MALDI-TOF y VITEK 2C representa un paso clave para optimizar los flujos de trabajo, agilizar la obtención de resultados y favorecer su seguimiento en tiempo real. Asimismo, el desarrollo de bases de datos locales de espectros proteicos,

adaptadas a las cepas circulantes en Argentina, permitiría incrementar la precisión en la identificación bacteriana y fortalecer la capacidad diagnóstica del laboratorio.

VI) Bibliografía

1. Azula, N., Relloso, S., Barrios, R., Nicola, F., & Smayevsky, J. (2022). *Identificación directa de microorganismos a partir de hemocultivos positivos utilizando espectrometría de masas (MALDI-TOF MS)*. Acta Bioquím. Clín. Latinoam., 56(1), 17–31.
2. Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). *Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. Enferm Infecc Microbiol Clin., 29(8):601–608.
3. Di Conza, J. A. (2022). *Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la microbiología clínica*. Rev. Argent. Microbiol., 54(3).
4. Hervé, B. E. (2015). *Nuevas tecnologías en el diagnóstico microbiológico: Automatización y algunas aplicaciones en identificación microbiana y estudio de susceptibilidad*. Rev. Med. Clin. Condes., 26(6):753-763.
5. Hogan, C. A., Watz, N., Budvytiene, I., & Banaei, N. (2019). *Prueba rápida de sensibilidad a antimicrobianos mediante VITEK® 2 directamente desde hemocultivos en pacientes con bacteriemia por bacilos Gram negativos*. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis., 94(2):116–121.
6. Maldonado, N., Robledo, C., & Robledo, J. (2018). *La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica*. Infectio; 22(1):35-45.
7. Oviaño García M., Rodríguez Sánchez B., Caballero Pérez J.D., Muñoz Bellido J.L. (2019). *Procedimientos en Microbiología Clínica. Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en Microbiología Clínica*. SEIMC, 65.
8. Rocca M.F., Almuzara M., Barberis C., Vay C., Viñes P., Prieto M. (2020). *Presentación del sitio web de la Red Nacional de Identificación Microbiológica por Espectrometría de Masas. Manual para la interpretación de resultados de MALDI-TOF MS*. Rev. Argent. Microbiol., 52(1):83-84.



Métodos automatizados de identificación bacteriana y sensibilidad a los antimicrobianos en el laboratorio de microbiología clínica



Fortuna, Florencia¹; Tassano, Josefina²; Misto, Claudia³; Dellarossa, Lucía³; Zanotti, Agustina³; Marchiaro, Patricia³.
¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, ²Laboratorio CIBIC

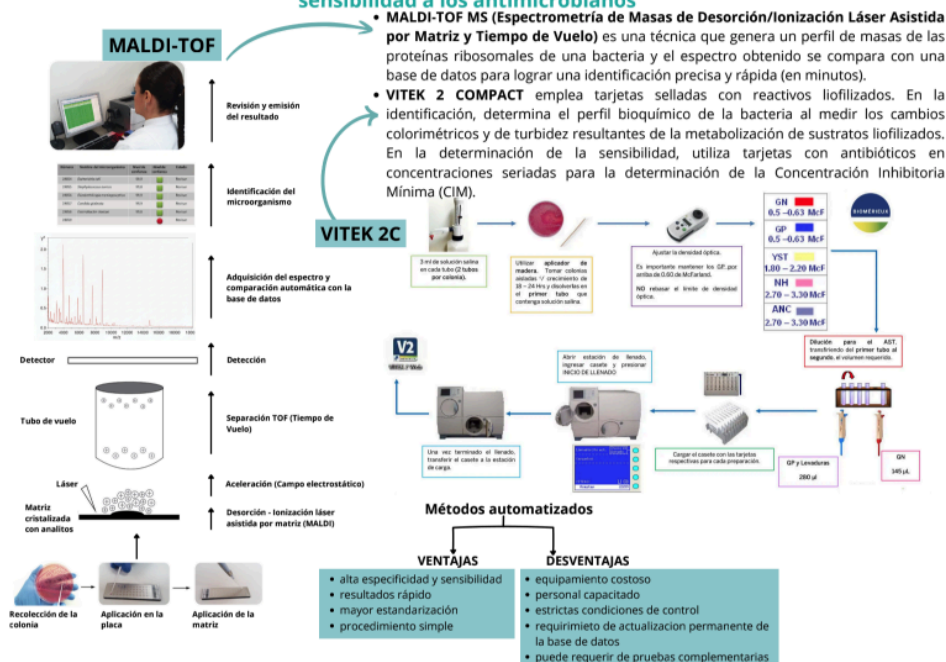
INTRODUCCIÓN:

En este trabajo se presenta la aplicación de métodos automatizados en el procesamiento de muestras clínicas siguiendo los protocolos del área de Microbiología del Laboratorio Cíbic. A modo ilustrativo, se presenta los resultados obtenidos en muestras de orina y sangre derivadas de un sanatorio privado correspondientes a un paciente hospitalizado.

OBJETIVO:

Describir cómo la automatización en el laboratorio de microbiología contribuye a una identificación rápida y precisa en el diagnóstico microbiológico, y como influye en la decisión terapéutica.

Procedimiento de los métodos automatizados para identificación y sensibilidad a los antimicrobianos

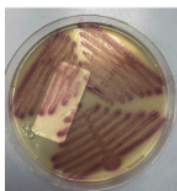


Diagnóstico microbiológico mediante sistemas automatizados

Muestra: orina de chorro medio

Procesamiento:

- Centrifugación de la muestra y obtención de el sedimento:** abundantes leucocitos, hemáticas, escasas células epiteliales
- Tinción de Gram:** bacilos gram-negativo
- Siembra cuantitativa en agar CPS:** colonias rosadas compatibles con *Escherichia coli*, con un recuento significativo (>100.000 UFC/ml).



- Estudio de sensibilidad a los antimicrobianos mediante sistema VITEK 2 C (bioMérieux), empleando el panel AST-GN 422.**

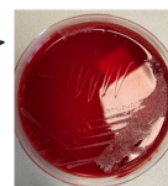
El aislamiento mostró sensibilidad a ertapenem, amikacina, nitrofurantoina y fosfomicina. Presentó resistencia a la mayoría de los β-lactámicos, incluidas cefalosporinas de 1ª a 4ª generación y combinaciones con inhibidores de β-lactamasas, así como a ciprofloxacina, gentamicina y trimetoprima/sulfametoxazol. El sistema además detectó producción de BLEE.

Muestra: dos frascos de hemocultivo con sangre entera

Procesamiento:

- Incubación en BACT/ALERT:** ambos positivos antes de las 24hs.
- Tinción de Gram:** bacilos gram-negativos
- Subcultivo en agar chocolate y agar sangre**

pátina bacteriana a las 6hs



- Identificación mediante MALDI-TOF VITEK MS (bioMérieux):** *Escherichia coli*, alto nivel de confianza.

El nivel de confianza se calcula comparando el espectro proteico del aislamiento con la base de datos. Según la coincidencia de los picos de masa e intensidad, el sistema indica la confiabilidad de la identificación.

- Perfil de sensibilidad antimicrobiana** coincidente con el perfil obtenido del urocultivo.

Se confirma que la bacteriemia se asoció a infección urinaria

CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVA:

La integración de los sistemas automatizados VITEK MS (MALDI-TOF) y VITEK 2 C en microbiología clínica permite una identificación rápida y precisa de los microorganismos, junto con la determinación de su perfil de sensibilidad a los agentes antimicrobianos. Esta combinación optimiza los procesos del laboratorio al mejorar la reproducibilidad y la estandarización. Esto resulta en decisiones terapéuticas más acertadas, especialmente en pacientes críticos. Es fundamental destacar que, a pesar del avance en la automatización siempre se requiere el criterio profesional del bioquímico para una correcta interpretación de los resultados. Se espera avanzar hacia una integración completa de estas tecnologías en el flujo de trabajo del laboratorio.

Calibración y determinación de la
heparinemia como actividad anti-Xa en
un paciente pediátrico con soporte
ECMO

Laboratorio del Sanatorio Parque

Lucia Abdelahad

Tutor: Arianna Pratti

Presentación

El presente trabajo se enmarca en la determinación de la concentración de heparina como factor anti-Xa en el contexto de la atención de un paciente pediátrico de 3 años internado en el Sanatorio de Niños de la ciudad de Rosario, que requirió soporte vital mediante oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) durante 14 días debido a miocarditis aguda. El sistema ECMO constituye una forma avanzada de asistencia extracorpórea que permite el intercambio gaseoso y el mantenimiento de la circulación sanguínea cuando el corazón o los pulmones no pueden cumplir adecuadamente su función.

Durante este procedimiento, la sangre del paciente entra en contacto con materiales no biológicos del circuito extracorpóreo, lo cual genera activación de la cascada de coagulación, del sistema de complemento y de las plaquetas. Para evitar la formación de trombos tanto en el circuito como en el paciente, se administra tratamiento anticoagulante continuo con **heparina no fraccionada (HNF)** por vía intravenosa.

La heparina es un polisacárido con potente actividad anticoagulante, cuya acción depende de la potenciación de la antitrombina, inhibiendo principalmente a la trombina y al factor Xa. A pesar de ser un fármaco ampliamente utilizado, su efecto es variable entre pacientes y puede verse influido por múltiples factores, como el estado inflamatorio, el consumo de antitrombina, el peso corporal y la función renal. Esta variabilidad hace indispensable un monitoreo continuo y preciso para ajustar la dosis en el rango terapéutico y minimizar los riesgos de hemorragia o trombosis.

El control de la anticoagulación en pacientes con ECMO reviste especial complejidad, ya que los métodos tradicionales, como el tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT), pueden verse alterados por las condiciones clínicas del paciente o por interferencias analíticas. Por ello, la **determinación de la heparinemia mediante el ensayo de actividad anti-Xa** se considera actualmente una alternativa más específica y confiable, al reflejar directamente la concentración plasmática de heparina activa.

En este contexto, el laboratorio bioquímico adquiere un papel fundamental en la práctica clínica, garantizando que los resultados analíticos sean representativos y contribuyan a una toma de decisiones segura. El proceso de calibración del ensayo

es un punto crítico, ya que de su correcta ejecución depende la exactitud y trazabilidad de la medición.

El **objetivo de este trabajo** es describir el proceso de calibración empleado para la determinación de la heparinemia (actividad anti-Xa) en un paciente pediátrico bajo soporte ECMO, analizando los requisitos preanalíticos y analíticos necesarios para obtener resultados representativos y confiables.

El alcance del estudio se centra en la revisión del procedimiento de calibración, los controles de calidad implementados y las condiciones que aseguran la validez del resultado en el contexto particular de un paciente pediátrico en ECMO.

Marco teórico

Heparina no fraccionada (HNF)

La heparina es una molécula heterogénea con respecto a tamaño molecular, forma y densidad de carga eléctrica. Durante su proceso de síntesis se produce elongación y modificación de las moléculas, dando lugar a diferencias en la actividad anticoagulante y propiedades farmacocinéticas. La heparina no fraccionada (HNF) es un proteoglicano que se aísla como una mezcla de glicosaminoglicanos sulfatados con fuerte carga negativa. Su peso molecular varía de 5.000 a 30.000 Da, con un peso promedio de 13.000 a 15.000 Da. La HNF es un anticoagulante parenteral que actúa de forma indirecta potenciando la acción inhibitoria de la antitrombina (AT) sobre la trombina (FIIa) y el factor Xa (FXa). Esta interacción acelera la inactivación de dichos factores hasta 300 veces, previniendo la formación de fibrina y, en consecuencia, la generación del coágulo.

Por sus características farmacológicas —inicio rápido, vida media corta y reversibilidad mediante sulfato de protamina— la HNF continúa siendo el anticoagulante de elección en pacientes que requieren soporte extracorpóreo, como aquellos sometidos a oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO). Su principal ventaja radica en la posibilidad de ajuste fino y reversión inmediata del efecto anticoagulante, algo esencial en contextos críticos.

Sin embargo, su efecto es altamente variable entre pacientes debido a múltiples factores, como diferencias en la concentración plasmática de proteínas, inflamación sistémica, consumo de antitrombina, peso corporal y función renal. Esta variabilidad

hace indispensable su monitoreo regular para asegurar que la anticoagulación se mantenga dentro de un rango terapéutico eficaz y seguro.

Monitoreo del tratamiento con HNF

El monitoreo de la heparina tiene como objetivo evaluar la intensidad del efecto anticoagulante y ajustar la dosis para prevenir tanto eventos trombóticos como hemorrágicos. Tradicionalmente, se utilizó el tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) como prueba de control; sin embargo, este ensayo presenta limitaciones importantes, especialmente en pacientes críticos, donde pueden coexistir alteraciones de factores de coagulación, aumento de reactantes de fase aguda o presencia de anticoagulante lúpico.

Frente a estas limitaciones, el **ensayo cromogénico de actividad anti-Xa**, comúnmente llamado **heparinemia**, se considera actualmente el método más específico y confiable para la monitorización de la HNF. El método cromogénico en dos etapas o ensayo cromogénico cinético (fig. 1) consiste en adicionar al plasma una cantidad en exceso de factor Xa, el cual es neutralizado parcialmente por el complejo AT/heparina y luego cuantificar el factor Xa residual de acuerdo al color desarrollado por hidrólisis de un sustrato cromogénico específico para dicho factor, siendo la liberación de paranitroanilina (pNA) inversamente proporcional a la cantidad de heparina presente en la muestra. Este método evalúa la capacidad del plasma del paciente para inhibir al FXa exógeno, midiendo la disminución de absorbancia del producto cromogénico liberado. Los resultados se expresan como unidades internacionales (UI/mL) de actividad anti-Xa.

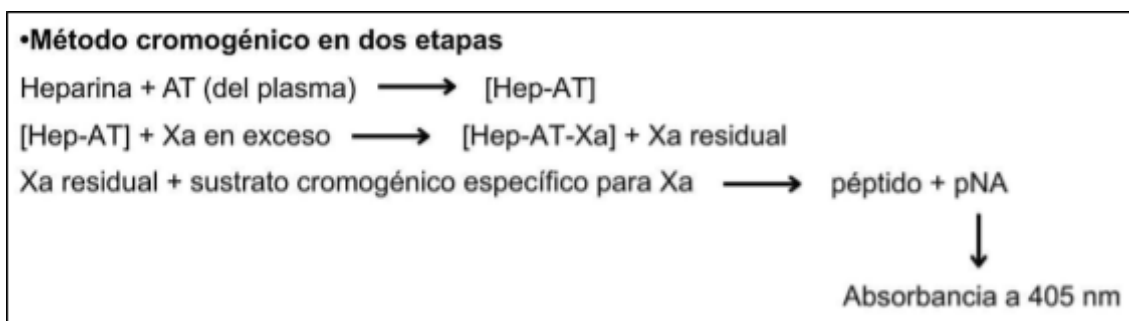


Figura SEQ Figura * ARABIC 1: Esquema del método cromogénico en dos etapas

El rango terapéutico habitual para anticoagulación con HNF se sitúa entre **0,3 y 0,7 UI anti-Xa/mL**, aunque puede variar según la patología y las características del

paciente. En el contexto de ECMO, estos valores suelen adaptarse de acuerdo con la evolución clínica, la estabilidad hemodinámica y la evaluación conjunta del equipo interdisciplinario.

Aspectos preanalíticos y analíticos del monitoreo

El éxito del monitoreo depende en gran medida de un estricto control de las variables preanalíticas. Las muestras deben obtenerse por punción venosa, nunca a través del circuito de infusión de heparina, y recolectarse en tubos con citrato de sodio al 3,2 % correctamente enrazados. Se recomienda centrifugar dentro de las dos horas posteriores a la extracción para evitar neutralización del anticoagulante por el factor plaquetario 4.

En pacientes con infusión continua de HNF, el momento de la toma de muestra no influye significativamente siempre que hayan transcurrido más de cuatro horas desde el bolo inicial y más de dos horas desde un cambio en la velocidad de infusión.

En el aspecto analítico, el ensayo de actividad anti-Xa requiere la **realización de una curva de calibración** empleando calibradores trazables a estándares internacionales de la OMS, lo que asegura la comparabilidad y exactitud de los resultados. Las diferentes marcas comerciales de HNF poseen diferencias significativas en su biodisponibilidad, por lo que en casos de no poseer un calibrador incluido en el kit de reactivos utilizado es necesario construir un calibrador *in house* con la HNF que se le administra al paciente. La relación lineal entre la concentración de heparina y la absorbancia se establece a partir de al menos cuatro puntos de calibración. Se deben incluir además **controles internos** de al menos dos niveles (bajo y alto) en cada corrida, y, de forma ideal, participar de programas de **control de calidad externo** cuando estén disponibles, con el fin de garantizar la confiabilidad del método.

Factores analíticos que pueden interferir con la medición incluyen el conjunto reactivo-equipo utilizado y elementos en la muestra como la lipemia, hemólisis, hiperbilirrubinemia o la presencia de heparinas de bajo peso molecular, por lo que resulta esencial la validación del método en cada laboratorio según su equipamiento y reactivos.

Anticoagulación y hemostasia en ECMO

La **oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO)** es una técnica de soporte vital que permite la oxigenación y circulación sanguínea extracorpórea en pacientes con falla cardiorrespiratoria reversible. El contacto continuo de la sangre con los biomateriales del circuito activa tanto la coagulación como la respuesta inflamatoria, generando un estado de hipercoagulabilidad que obliga al uso de anticoagulación continua con HNF.

A su vez, este tratamiento prolongado y la alteración del flujo laminar predisponen también al sangrado, por lo que el manejo de la anticoagulación en ECMO es un equilibrio dinámico y complejo. Las principales complicaciones hemostáticas incluyen trombosis del circuito, hemorragia intracraneal, sangrado digestivo o disfunción plaquetaria.

El monitoreo debe ser frecuente: al inicio y cada 4–6 horas hasta lograr niveles estables de anticoagulación, y posteriormente con intervalos mayores si el paciente se mantiene estable. Además del dosaje de heparinemia (anti-Xa), se recomienda evaluar parámetros complementarios como tiempo de protrombina, fibrinógeno, recuento plaquetario, dímero D y niveles de antitrombina. En algunos laboratorios, los ensayos viscoelásticos (ROTEM o TEG) se utilizan como herramienta adicional para evaluar el estado global de la coagulación y orientar decisiones terapéuticas.

Síntesis

En síntesis, la heparina no fraccionada continúa siendo el anticoagulante de elección en pacientes bajo ECMO por su eficacia y reversibilidad. Sin embargo, su manejo requiere una monitorización bioquímica precisa. El ensayo cromogénico de actividad anti-Xa, adecuadamente calibrado y controlado, constituye la herramienta más confiable para evaluar la heparinemia y garantizar una anticoagulación segura en este tipo de pacientes.

Resultados

El coagulómetro utilizado para la determinación de la heparinemia es el Tcoag DT100, el reactivo de anti-Xa “INNOVANCE Heparin” de Siemens Healthinners y el reactivo de APTT “ACTIN FSL” de Siemens Healthinners. Este kit de reactivos para el anti-Xa contiene factor Xa y el sustrato cromogénico, pero no incluye el calibrador

para la determinación, por lo cual este es construido en el laboratorio a partir de la HNF comercial que se le administra al paciente.

La calibración debe realizarse cada vez que se produce un cambio en la marca de heparina comercial administrada, un cambio de lote en la misma o un cambio de lote del reactivo. Durante el tiempo en que el paciente estuvo en tratamiento con ECMO se cambió la marca comercial utilizada de HNF de DUNCAN a PharmaVital por lo que hubo que recalibrar la determinación.

El protocolo de la calibración inicia con la dilución meticulosa de la HNF comercial desde su concentración de 5000 U/ml hasta las 50 U/ml con agua destilada, no se utiliza solución fisiológica dado que esta aportaría iones que podrían interferir con la matriz que ya contiene sodio por la heparina, y luego se prosigue con la dilución hasta 1 U/ml con un pool de plasma normal de al menos 50 pacientes para que la solución final se encuentre en la misma matriz que las muestras. Finalmente se obtiene 5 mL de una solución de HNF de concentración 1 U/ml. Para corroborar que se realizó correctamente la dilución se utiliza la medición del APTT sobre la solución debiéndose obtener valores de 2.5 a 3 veces el APTT del pool de plasma normal, lo esperado para el plasma heparinizado en rango terapéutico. La solución final se utiliza como calibrador y como control de calidad y se puede almacenar en freezer a -18°C perfectamente rotulado hasta su uso.

La curva de calibración se realiza con cuatro diluciones del calibrador fabricado: 1/2, 1/4, 1/6 y 1/8, ajustándose luego los valores obtenidos de absorbancia por regresión lineal. Los valores del r (coeficiente de correlación) obtenidos, en valor absoluto, para considerar adecuada la calibración deben ser mayores a 0.99.

Los resultados de las curvas de calibración realizadas son los siguientes.

Tabla 1: Puntos de la curva de calibración para HNF DUNCAN

Dil.	$\Delta\text{DO}/\text{min}$	Conc.
8	0.86	0.12
6	0.80	0.17
4	0.70	0.25
2	0.47	0.50

$$r = -1.00000$$

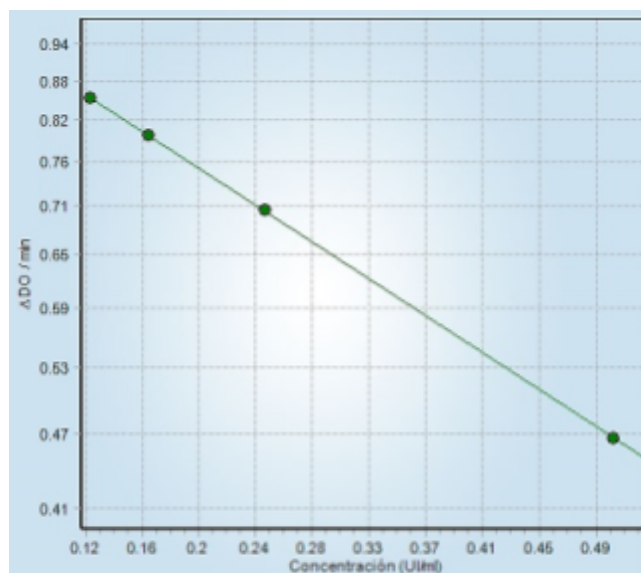


Figura SEQ Figura * ARABIC 2: Curva de calibración de HNF DUNCAN

Tabla 2: Puntos de la curva de calibración para HNF PharmaVital

Dil.	$\Delta DO/min$	Conc.
8	0.83	0.12
6	0.78	0.17
4	0.68	0.25
2	0.47	0.50

$$r = -0.99581$$

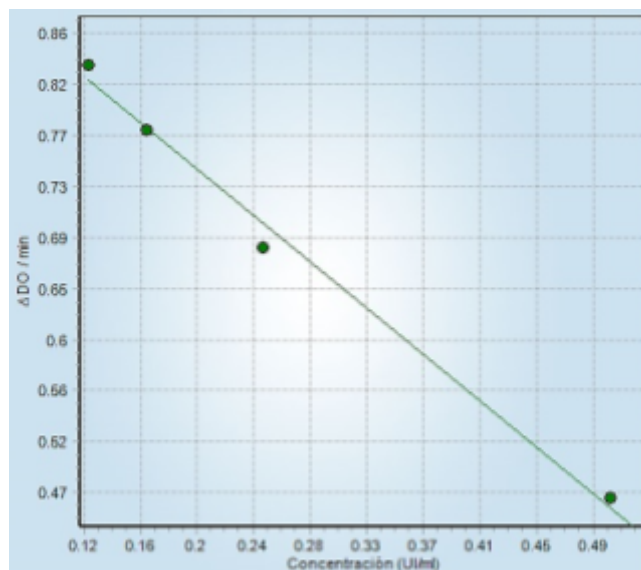


Figura SEQ Figura 1* ARABIC 3: Curva de calibración de HNF PharmaVital

Control de calidad y procesamiento de la muestra

Los controles de calidad para la determinación de la actividad anti-Xa se realizan diariamente utilizando pool de plasma normal como control negativo (0% de actividad anti-Xa), una dilución al medio del calibrador para controlar un valor intermedio, y el mismo calibrador para controlar valores altos de heparinemia.

Al procesar la muestra se debe utilizar reactivo nuevo cada vez para asegurarse de que el mismo no se haya degradado o perdido calidad, ya que al permanecer en el equipo se envejece por ser foto-sensible.

Discusión y conclusiones

La determinación de la heparinemia mediante el ensayo de actividad anti-Xa constituye el método más específico para monitorizar el efecto de la heparina no fraccionada, particularmente en pacientes sometidos a ECMO, en quienes la variabilidad farmacocinética y las alteraciones hemostáticas asociadas al soporte extracorpóreo dificultan el uso de otros ensayos como el APTT. En este trabajo se analizó el proceso de calibración del método cromogénico anti-Xa y su implementación en el laboratorio del Sanatorio Parque durante el tratamiento anticoagulante de un paciente pediátrico con ECMO.

La calibración es un proceso crítico en la determinación de la heparinemia, ya que define la relación entre la señal medida (absorbancia) y la concentración real de

heparina en el plasma. Una calibración adecuada garantiza que el resultado sea representativo y clínicamente útil. La correcta calibración no solo asegura resultados válidos, sino que también sustenta la trazabilidad del procedimiento y la toma de decisiones clínicas en situaciones críticas como el ECMO pediátrico, donde pequeñas variaciones en la dosis de heparina pueden tener consecuencias significativas.

Los resultados obtenidos muestran que las curvas de calibración construidas para ambas marcas comerciales de HNF (DUNCAN y PharmaVital) presentaron coeficientes de correlación mayores a 0,99, lo cual indica una adecuada linealidad dentro del rango analítico evaluado. Esta linealidad es esencial para garantizar que la relación entre la absorbancia medida y la concentración de heparina sea proporcional y permita obtener valores confiables en las muestras del paciente. El hecho de que ambas curvas hayan mostrado un comportamiento similar sustenta la consistencia del procedimiento de calibración y evidencia que las diferencias entre marcas comerciales pueden ser adecuadamente compensadas mediante la construcción de calibradores *in house*.

El cambio de marca de heparina durante el tratamiento del paciente obligó a recalibrar el método, lo cual se ajusta a las recomendaciones de práctica óptima. Este punto es particularmente relevante, ya que la variabilidad entre preparados comerciales puede impactar en la actividad biológica y biodisponibilidad de la HNF. La estrategia utilizada —realizar diluciones seriadas hasta obtener una solución madre de 1 U/mL en matriz de plasma normal— permitió construir un calibrador adecuado y con trazabilidad interna, verificando además la concentración mediante APTT, que funcionó como método de confirmación independiente.

Desde el punto de vista preanalítico, se cumplieron los requisitos más relevantes: extracción por punción venosa del lado opuesto al que se realiza la infusión de heparina, uso de tubos con citrato correctamente enrazados, centrifugación en tiempo adecuado y control de interferencias plausibles. El cumplimiento de estos requisitos es fundamental para asegurar que se introduzca la menor cantidad de variabilidad y errores en la determinación.

El control de calidad interno se realizó en cada corrida, utilizando tres niveles de control: negativo, intermedio y alto. Este esquema es apropiado para asegurar la exactitud del método dentro del rango terapéutico requerido (0,3–0,7 UI/mL). El uso

cotidiano de estos controles permitió detectar potenciales desvíos y asegurar que los resultados fueran clínicamente interpretables.

En conjunto, los datos analizados muestran que el método anti-Xa calibrado localmente fue adecuado para monitorizar el tratamiento anticoagulante del paciente en ECMO. El proceso de calibración, la verificación de la linealidad, el control de calidad y las condiciones preanalíticas observadas permitieron obtener resultados confiables y clínicamente útiles. Se concluye que la implementación sistemática de esta metodología contribuye a mejorar la seguridad del paciente y a optimizar el manejo de la heparinización en un escenario clínico de alta complejidad.

Perspectivas

A partir de los resultados obtenidos, se identifican diversas oportunidades de mejora para fortalecer la calidad analítica y el abordaje interdisciplinario en la monitorización de heparina en pacientes en ECMO. Una primera perspectiva es avanzar hacia la estandarización interna de rangos terapéuticos específicos de anti-Xa para población pediátrica con soporte extracorpóreo, a partir de la experiencia local y de la literatura disponible. Asimismo, podría incorporarse un protocolo formalizado para la preparación del calibrador, documentando cada etapa del proceso y estableciendo criterios de aceptación más detallados.

Finalmente, se podrían promover estudios prospectivos locales que evalúen la relación entre dosis de HNF, niveles de anti-Xa y eventos clínicos, buscando optimizar la toma de decisiones terapéuticas. La articulación entre bioquímica clínica, cuidados intensivos, perfusionistas y hematología resulta clave para continuar mejorando la seguridad y eficacia del manejo anticoagulante en pacientes sometidos a ECMO.

Bibliografía

Nakkache, M., Martinuzzo, M. Control de terapia anticoagulante con heparina. Grupo CAHT, *Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia*, segunda edición (pp. 346-353). Federación bioquímica de la provincia de Buenos Aires.

Ceresetto, J. M., Duboscq, C., Scazzioti, A., Rosa, C., Martinuzzo, M., Molnar, S., Chuliber, F., Casais, P., Korin, J. (2025). *Anticoagulantes parenterales. Actualización en uso y monitoreo de la heparina y sus derivados. MEDICINA (Buenos Aires)*, 85 (Suplemento 2), 1-45.

Saldarriaga, M., González Coteló, S. (2019). *Aspectos claves en el monitoreo de la heparina para la cirugía cardiovascular y el soporte vital extracorpóreo. Revista ALAP*, 3 (2).



UNR Universidad
Nacional de Rosario



CALIBRACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA HEPARINEMIA COMO ACTIVIDAD ANTI-XA EN UN PACIENTE PEDIÁTRICO CON SOPORTE ECMO

Autor: Abdelahad, Lucia¹; Bonavita, Daniela²; Pratti, Arianna¹

¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Sanatorio Parque, Rosario

INTRODUCCIÓN

La oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) requiere anticoagulación continua con heparina no fraccionada (HNF) para prevenir trombosis del circuito y del paciente. En este contexto, el APTT presenta múltiples interferencias y el ensayo cromogénico de **actividad anti-Xa** constituye el método más específico para evaluar la heparinemia.

La exactitud del resultado depende críticamente de una calibración adecuada, especialmente cuando cambia la marca o el lote de la HNF administrada.

Objetivo: Describir el proceso de calibración del método cromogénico anti-Xa para monitorizar la heparinemia en un paciente pediátrico en ECMO, asegurando la validez analítica y la confiabilidad clínica del resultado.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

- **Equipo:** Coagulómetro Tcoag DT100.
- **Reactivos:** Anti-Xa INNOVANCE Heparin (Siemens).
- **Muestras:** Plasma citratado obtenido por punción venosa; centrifugación dentro de 2 h; control de hemólisis, lipemia e interferencias.

Protocolo de preparación del calibrador "in house":

- Dilución de HNF comercial (5000 U/mL) → 50 U/mL con agua destilada.
- Dilución final a 1 U/mL en pool de plasma normal (≥50 donantes).
- Verificación de la concentración mediante APTT (2,5 a 3 veces el APTT del pool de plasma normal).
- Almacenamiento a -18 °C.

Construcción de la curva de calibración:

- Se realizan 4 diluciones del calibrador: 1/2, 1/4, 1/6, 1/8.
- El ajuste de los puntos de la curva se hace por regresión lineal. Criterio de aceptación: $r \geq 0,99$.
- El control de calidad interno se realiza diariamente en tres niveles:
- 0% → Pool de plasma normal como control negativo
 - Intermedio → Dilución al medio del calibrador
 - Alto → El mismo calibrador

RESULTADOS

Durante el tratamiento se hizo una recalibración realizada tras cambio de marca comercial de HNF (DUNCAN → PharmaVital). Se construyeron curvas de calibración independientes para ambas marcas de HNF.

Los coeficientes de correlación obtenidos fueron:

- DUNCAN: $r = -1,00000$
- PharmaVital: $r = -0,99581$

Las curvas mostraron excelente linealidad en todo el rango analítico.

El protocolo de preparación del calibrador permitió obtener soluciones estables y trazables, utilizables tanto para calibración como para controles altos.

CONCLUSIONES

- El método anti-Xa calibrado localmente demostró ser específico, lineal y confiable para monitorizar HNF en un paciente pediátrico en ECMO.
- La calibración "in house" permitió compensar las diferencias entre marcas de HNF y garantizar la validez clínica del resultado.
- La combinación de estrictos criterios preanalíticos, calibración adecuada y control de calidad en tres niveles aseguró resultados reproducibles y clínicamente interpretables.
- La implementación sistemática de este proceso contribuye a mejorar la seguridad del paciente y optimizar el manejo anticoagulante en ECMO pediátrico.

Tabla 1: Puntos de la curva de calibración para HNF DUNCAN

Dil.	$\Delta DO/min$	Conc.
8	0.86	0.12
6	0.80	0.17
4	0.70	0.25
2	0.47	0.50

Figura 1: Curva de calibración de HNF DUNCAN

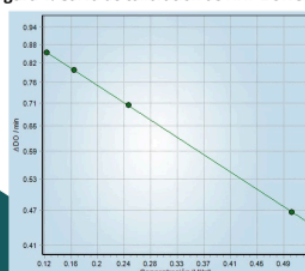
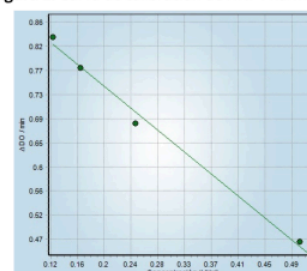


Tabla 2: Puntos de la curva de calibración para HNF PharmaVital

Dil.	$\Delta DO/min$	Conc.
8	0.83	0.12
6	0.78	0.17
4	0.68	0.25
2	0.47	0.50

Figura 2: Curva de calibración de HNF PharmaVital



Rol del bioquímico en la detección de bacterias multirresistentes

Autor: Carnevale Sebastián Ariel

Tutora: Bioq. María Celeste Cerdan

Co tutora: Bioq. Esp. Paula Indelman

Institución de rotación: Laboratorio – Sanatorio Americano

Introducción

La resistencia antimicrobiana constituye uno de los principales desafíos actuales para la salud pública, debido a su impacto en la morbilidad y mortalidad de los pacientes, la prolongación de internaciones y el aumento de los costos sanitarios (OMS, 2021). La diseminación de bacterias productoras de carbapenemasas, β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y bacilos no fermentadores resistentes a carbapenémicos compromete la eficacia de los antibióticos de última línea, como los carbapenémicos (Nordmann et al, 2011; Rodríguez-Baño & Navarro, 2018).

En este contexto, la práctica profesional del bioquímico y del bacteriólogo clínico adquiere un rol esencial. El laboratorio de bacteriología no solo se encarga de la identificación de los patógenos, sino también de la detección de los mecanismos de resistencia mediante pruebas fenotípicas y moleculares. Estas metodologías permiten evidenciar, en la rutina diaria, la presencia de enterobacterias y no fermentadores con carbapenemas de tipo serino (KPC) y metalo (MBL) y cefalosporinasas (BLEE), contribuyendo a la vigilancia epidemiológica y a la toma de decisiones terapéuticas (CLSI, 2023; ANLIS-Malbrán, 2024).

El presente trabajo, enmarcado en la formación académica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario, se centra en describir cómo, desde la práctica profesional del laboratorio clínico, se lleva adelante la búsqueda de bacterias multirresistentes y sus mecanismos de resistencia. A través de la sistematización de técnicas de tamizaje, aislamiento y análisis de sensibilidad antimicrobiana, se pretende mostrar cómo el trabajo cotidiano del bioquímico en el laboratorio permite poner en evidencia la circulación de estos patógenos y aportar a la prevención de su diseminación en el ámbito hospitalario.

Marco teórico

La resistencia antimicrobiana se define como la capacidad adquirida de un microorganismo para sobrevivir y multiplicarse en presencia de concentraciones de antimicrobianos que normalmente inhibirían o destruirían a bacterias de la misma especie. Este fenómeno puede originarse a través de mutaciones espontáneas,

presión selectiva generada por el uso indiscriminado de antibióticos o mediante la adquisición de genes de resistencia a través de mecanismos de transferencia horizontal, tales como plásmidos, transposones e integrones (Davies & Davies, 2010).

Desde una perspectiva de salud pública, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021) reconoce a la resistencia antimicrobiana como una de las diez principales amenazas globales, estimando que podría causar 10 millones de muertes anuales hacia 2050 si no se implementan estrategias de control eficaces. Además, la resistencia antimicrobiana impacta directamente en la prolongación de internaciones, aumento de costos hospitalarios y necesidad de terapias alternativas más tóxicas y costosas (Rodríguez-Baño & Navarro, 2018).

Los carbapenémicos (imipenem, meropenem, ertapenem y doripenem) pertenecen a la familia de los antibióticos β -lactámicos y actúan uniéndose a proteínas ligadoras de penicilina (PBP), inhibiendo la síntesis del peptidoglicano de la pared celular. Su amplio espectro y estabilidad frente a la mayoría de β -lactamasas los convierten en la principal opción terapéutica para infecciones graves causadas por bacilos Gram negativos multirresistentes (Papp-Wallace et al., 2011). Debido a esto, se los considera fármacos de 'última línea'. Sin embargo, la emergencia de carbapenemasas amenaza seriamente su eficacia.

Las carbapenemasas son enzimas capaces de hidrolizar a los carbapenémicos. Según la clasificación de Ambler se dividen en:

- Clase A (KPC: *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase): serina- β -lactamasas, predominantes en América Latina. El gen blaKPC ha sido responsable de múltiples brotes en hospitales argentinos desde su primer reporte en 2006 (Pasterán et al., 2012).
- Clase B (MBL: metalo- β -lactamasas, como NDM, VIM e IMP): dependientes de zinc para su actividad. Estas confieren resistencia a casi todos los β -lactámicos, excepto al aztreonam (Nordmann et al., 2011).
- Clase D (OXA-type carbapenemasas): predominantes en *Acinetobacter baumannii*, asociadas a infecciones intrahospitalarias de elevada mortalidad (Marchiaro et al., 2019).

Las BLEE son enzimas derivadas de β -lactamasas clásicas (TEM, SHV, CTX-M) que, por mutaciones, adquirieron capacidad de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación y aztreonam. Aunque son inhibidas por ácido clavulánico, su presencia dificulta la elección terapéutica, ya que suelen encontrarse asociadas a plásmidos que portan otros genes de resistencia, incluyendo resistencia a fluoroquinolonas y aminoglucósidos (Paterson & Bonomo, 2005).

Los bacilos no fermentadores, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, constituyen un problema crítico en unidades de cuidados intensivos. Además de producir carbapenemasas, poseen múltiples mecanismos de resistencia intrínsecos y adquiridos, como la pérdida de porinas, sobreexpresión de bombas de eflujo y formación de biofilms, lo que dificulta aún más su tratamiento (Poole, 2011).

El proceso de vigilancia epidemiológica se fundamenta en la necesidad de detectar de manera temprana bacterias resistentes. El uso de agar CLDE combinado con discos de antibióticos como cefotaxima, ertapenem, cefepime y piperacilina/tazobactam, se encuentra recomendado por guías internacionales y protocolos nacionales (CLSI, 2023; ANLIS-Malbrán, 2024) para el tamizaje inicial. Este enfoque permite identificar colonias sospechosas que crecen dentro o en proximidad de los halos de inhibición, constituyendo el primer paso hacia la confirmación de mecanismos de resistencia.

La confirmación fenotípica se apoya en pruebas específicas como el Blue-Carba Test (BCT), una metodología rápida validada que detecta la hidrólisis de carbapenémicos y el consecuente cambio de pH (Pasterán et al., 2016). Este test ha demostrado alta sensibilidad y especificidad para la detección de carbapenemasas en enterobacterias y bacilos no fermentadores. De forma complementaria, las pruebas de inhibición con ácido borónico y EDTA constituyen métodos fenotípicos simples y confiables para diferenciar entre carbapenemasas tipo KPC (inhibidas por borónico) y MBL (inhibidas por EDTA) (CLSI, 2023; EUCAST, 2024). Estas pruebas, al correlacionarse con los hallazgos moleculares, aportan un sustento sólido al análisis de resultados y permiten orientar medidas de control de infecciones en

tiempo real.

Por lo tanto, la integración de un tamizaje inicial en CLDE, seguido de pruebas rápidas (Blue-Carba) y confirmatorias (inhibición con borónico/EDTA), se encuentra avalada por guías internacionales y experiencias locales, constituyendo un estándar de vigilancia activa frente a bacterias multirresistentes.

Metodología: Tamizaje de muestras en laboratorio

Las muestras ingresadas al laboratorio, hisopados anales, se someten, en primera instancia, a una prueba de sensibilidad antimicrobiana en medio CLDE. Para ello, se inocula el medio con la muestra clínica y se colocan cuatro discos de antibióticos: Cefotaxima (CTX, cefalosporina de tercera generación), Cefepima (FEP, cefalosporina de cuarta generación), piperacilina con tazobactam (TAZ, penicilina antipseudomónica) y Ertapenem (ETP, carbapenémico utilizado en protocolos de tamizaje de enterobacterias). Estos antibióticos se emplean en el primer tamizaje porque permiten evidenciar la posible presencia de mecanismos de resistencia clínicamente relevantes, como las BLEE y carbapenemasas.

Antibiótico	Clase	Punto de corte CLSI (Sensible)	Punto de corte CLSI (Resistente)	Motivo de uso en tamizaje
Cefotaxima (CTX)	Cefalosporina de 3ra generación	≥ 26 mm	≤ 22 mm	Detección de BLEE
Cefepima (FEP)	Cefalosporina de 4ta generación	≥ 26 mm	≤ 22 mm	Detección de BLEE y resistencias avanzadas
Piperacilina/tazobactam (TAZ)	Cefalosporina de 3ra generación (activa contra Pseudomonas)	≥ 25 mm	≤ 20 mm	Detección de BLEE y resistencias avanzadas
Ertapenem (ETP)	Carbapenémico	≥ 22 mm	≤ 18 mm	Tamizaje de carbapenemasas en enterobacterias

Se continúa el estudio únicamente con aquellas colonias bacterianas que crecen dentro o en la proximidad del halo de inhibición de alguno de los discos, ya que

estos microorganismos son los que podrían portar mecanismos de resistencia. En los casos en que se detecta crecimiento polimicrobiano, se procede a su aislamiento y purificación, trabajando posteriormente con cepas puras.

Un resultado positivo en este primer ensayo sugiere la necesidad de confirmar la sospecha de resistencia. Para ello, se realiza de manera rápida la prueba Blue-Carba Test, que permite definir la presencia o ausencia de carbapenemasas. En caso de un resultado positivo, se notifica inmediatamente al Comité de Infectología de la institución para que adopte las medidas adecuadas en cuanto al manejo del paciente, incluyendo el aislamiento de contacto, con el fin de evitar la diseminación intrahospitalaria del microorganismo y reducir el riesgo de contagio a otros pacientes o al personal sanitario.

De forma complementaria, se lleva a cabo la prueba de inhibición con ácido borónico y EDTA, la cual permite orientar sobre el tipo específico de carbapenemasa (ej. KPC, MBL). Paralelamente, se realizan las pruebas bioquímicas convencionales destinadas a la identificación del microorganismo a nivel de género y especie, y se documenta el mecanismo de resistencia presente.

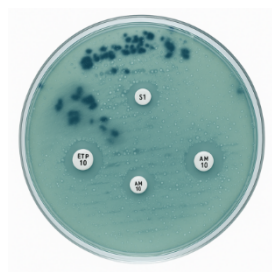


Figura 1. Prueba de sensibilidad en agar CLDE



Figura 2. Blue-Carba Test en tubos tipo Eppendorf. A la izquierda, control negativo (azul); a la derecha, prueba positiva (amarillo).



Figura 3 . Placa de agar MH donde se realizó el aislamiento del germen que dio resistente a ertapenem en la placa original la parte superior a la izquierda se colocó un disco de imipenem en el medio un disco con ácido borónico y a la derecha un disco de meropenem y en la parte inferior la disposición de los antibióticos es la misma y en medio hay un disco de EDTA.

Resultados

Durante el período comprendido entre enero y julio de 2025 se analizaron un total de 306 muestras de hisopados anales, de las cuales 126 (41,2%) resultaron positivas para bacterias portadoras de mecanismos de resistencia clínicamente relevantes.

Los resultados positivos se categorizaron en tres grandes grupos de acuerdo con el tipo de microorganismo y el mecanismo de resistencia detectado: enterobacterias con carbapenemasas, enterobacterias productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y bacilos no fermentadores con carbapenemasas.

Dentro de cada grupo se discriminó por género y especie, obteniéndose la siguiente distribución:

- Enterobacterias con carbapenemasas: se aislaron 40 en total, correspondientes a *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa tipo KPC (24) y tipo MBL (12), *Escherichia coli* con carbapenemasa tipo KPC (4).
- Enterobacterias con BLEE: se identificaron 73 aislamientos, de los cuales 40 correspondieron a *Klebsiella pneumoniae*, 28 a *Escherichia coli* y 5 a *Klebsiella oxytoca*.
- Bacilos no fermentadores con carbapenemasas: se obtuvieron 13 aislamientos, mayormente pertenecientes al complejo *Acinetobacter baumannii* con producción de MBL (11) y, en menor proporción, *Pseudomonas aeruginosa* con MBL (2).

Categoría	Subgrupo	Cantidad
Enterobacterias con carbapenemasas	<i>K. pneumoniae</i> (KPC)	24
	<i>K. pneumoniae</i> (MBL)	12
	<i>E. coli</i> (KPC)	4
Enterobacterias con BLEE	<i>K. pneumoniae</i>	40
	<i>E. coli</i>	28
	<i>K. oxytoca</i>	5
No fermentadores con carbapenemasas	<i>A. Baumannii complex</i> (MBL)	11
	<i>P. aeruginosa</i> (MBL)	2

Tabla 1: distribución de los resultados obtenidos de bacterias con mecanismos de resistencias

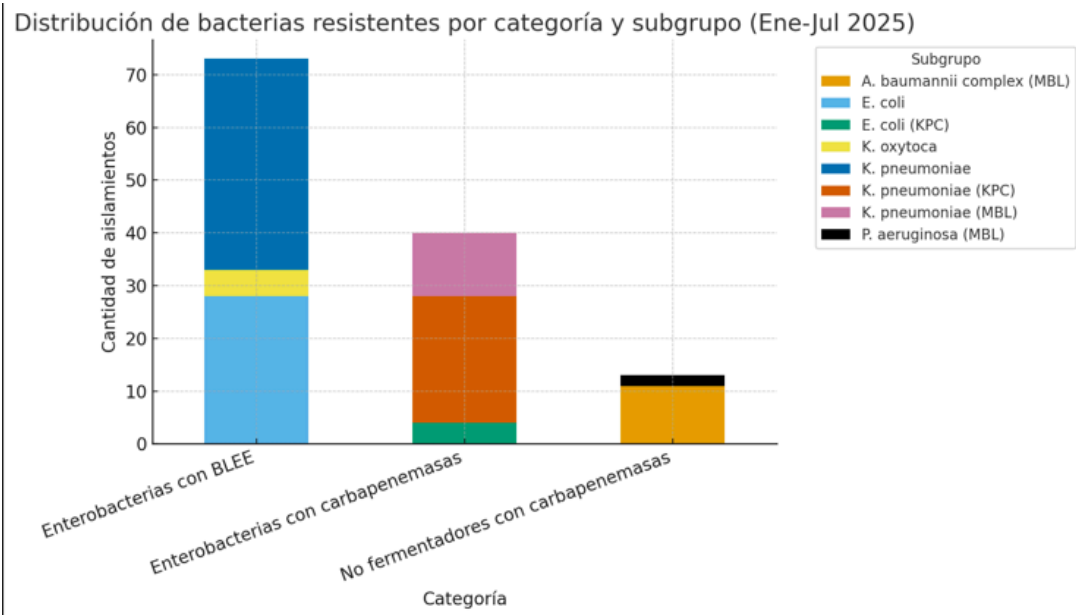


Gráfico 1: el gráfico muestra la distribución de los tres grupos de bacterias resistentes y en cada uno de esos grupos el sub grupo de microorganismo con su mecanismo de resistencia

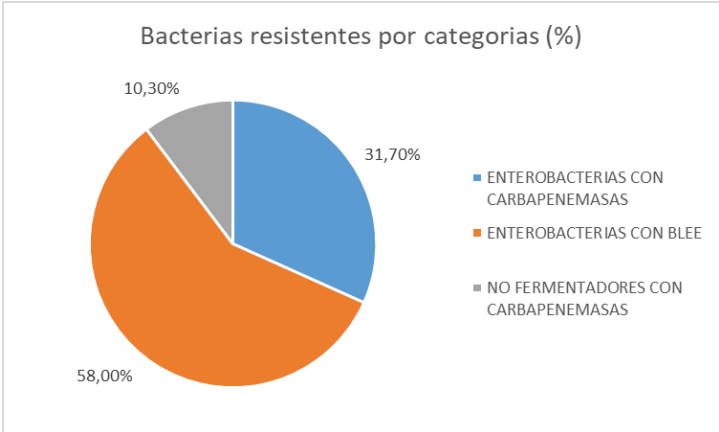


Gráfico 2. En este gráfico se muestra el porcentaje de las tres categorías de bacterias resistentes que se buscan en la vigilancia de estos microorganismos.

De todas las muestras analizadas que resultaron positivas, en todos los casos se trataba de pacientes portadores de bacterias resistentes, sin evidencia inicial de infección activa. Conforme al protocolo institucional y a las recomendaciones vigentes, se implementaron medidas de aislamiento de contacto a fin de evitar la diseminación intrahospitalaria y las complicaciones habitualmente asociadas a este tipo de microorganismos.

Cabe destacar que, durante el período de vigilancia, únicamente un paciente colonizado desarrolló una bacteriemia ocasionada por la misma bacteria resistente previamente detectada en el hisopado anal. La progresión desde el estado de portador a la infección clínica puede explicarse por la interacción de diversos factores de riesgo, entre los que se incluyen la inmunosupresión secundaria a la hospitalización, comorbilidades subyacentes, procedimientos invasivos y exposición prolongada a antibióticos.

Discusión

Los resultados obtenidos evidencian que el 41,2% de las muestras analizadas fueron positivas para bacterias resistentes, lo cual indica una alta tasa de portación intestinal en la población bajo vigilancia. Este hallazgo refuerza la importancia de los programas de control de infecciones, ya que la colonización representa un reservorio de diseminación hacia otros pacientes y al ambiente hospitalario.

Las enterobacterias productoras de BLEE constituyeron el grupo más prevalente (58,0% de los positivos), seguidas por las enterobacterias con carbapenemasas (31,7%) y, en menor proporción, los bacilos no fermentadores con carbapenemasas (10,3%). Estos resultados son consistentes con lo reportado a nivel nacional e internacional, confirmando que *K. pneumoniae* y *E. coli* siguen siendo los principales agentes de portación de resistencia.

Si bien la mayoría de los pacientes fueron portadores asintomáticos, se documentó un caso de progresión a bacteriemia por la misma bacteria resistente detectada en el tamizaje. Esto demuestra que la colonización no es un hallazgo menor, sino un factor de riesgo clínico relevante, cuya evolución depende de condiciones predisponentes como la inmunosupresión, la prolongada hospitalización, los procedimientos invasivos y la exposición prolongada a tratamiento anti microbianos. En este contexto, resulta fundamental el trabajo interdisciplinario entre bioquímicos,

médicos, bacteriólogos, infectólogos, enfermería y autoridades hospitalarias. La detección en laboratorio debe estar necesariamente acompañada de una comunicación rápida y efectiva: el bioquímico, al obtener un resultado de vigilancia sospechoso o confirmado positivo, tiene la responsabilidad de informar de inmediato al equipo clínico. Esta comunicación temprana permite instaurar rápidamente medidas de aislamiento y control, reduciendo el riesgo de transmisión y la posibilidad de brotes intrahospitalarios.

Conclusiones

1. La vigilancia activa mediante hisopados anales permitió detectar una alta proporción de portadores de bacterias resistentes, reafirmando la relevancia de esta práctica en la prevención de infecciones hospitalarias.
2. Las enterobacterias con BLEE fueron las más frecuentes, seguidas de las enterobacterias con carbapenemasas y de los bacilos no fermentadores.
3. El caso de bacteriemia en un paciente colonizado demuestra que la portación intestinal representa un riesgo clínico real, especialmente en pacientes con factores predisponentes.
4. La implementación de aislamiento de contacto en todos los casos positivos fue una medida clave para evitar la diseminación intrahospitalaria.
5. El abordaje interdisciplinario y la comunicación inmediata entre los integrantes del equipo de salud resultan esenciales para el control de infecciones. El bioquímico, en particular, cumple un rol protagónico no solo en la detección de microorganismos resistentes, sino también en la notificación temprana, que permite la toma de medidas oportunas.
6. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de mantener y fortalecer las estrategias de detección precoz, aislamiento oportuno, comunicación interdisciplinaria y uso racional de antibióticos, en concordancia con las guías nacionales e internacionales.

Perspectivas

A partir de los resultados de este trabajo, se evidencia la necesidad de continuar perfeccionando las estrategias de detección y control de bacterias resistentes en el ámbito hospitalario. La vigilancia activa constituye una herramienta de enorme valor, pero debe ser complementada con otras acciones que fortalezcan el abordaje

integral de la resistencia antimicrobiana.

En primer lugar, es fundamental avanzar hacia la implementación de tecnologías diagnósticas más rápidas y sensibles, que permitan detectar precozmente los mecanismos de resistencia y disminuir el tiempo entre la sospecha y la confirmación. Entre las metodologías diagnósticas más rápidas y sensibles se destacan las técnicas moleculares (PCR en tiempo real, LAMP y paneles multiplex), los ensayos inmunocromatográficos tipo *lateral flow*, los test bioquímicos rápidos como Carba NP o Blue Carba, y la detección por espectrometría de masas MALDI-TOF. Ello redundará en una respuesta terapéutica y epidemiológica más eficaz. Lo que limita el uso de estas metodologías muchas veces son los recursos con los que cuenta cada laboratorio y las tecnologías que tienen a disposición.

Asimismo, la resistencia bacteriana exige un enfoque interdisciplinario sostenido, en el que cada integrante del equipo de salud aporte su conocimiento y experiencia. En este contexto, el bioquímico tiene un papel clave en la obtención e interpretación crítica de resultados, y en la articulación con el equipo clínico para garantizar intervenciones oportunas.

Otra línea de acción futura es el desarrollo de políticas institucionales de capacitación continua, dirigidas tanto al personal de salud como a los estudiantes en formación, con el fin de sensibilizar sobre la importancia de la resistencia antimicrobiana y la responsabilidad compartida en su control.

Finalmente, como proyección académica y profesional, este trabajo refuerza la idea de que el bioquímico no debe limitarse al laboratorio, sino que debe asumir un papel activo como puente entre la evidencia microbiológica y la práctica clínica, contribuyendo así a mejorar la seguridad del paciente y a optimizar la calidad de la atención en salud.

Bibliografía

- Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos G. Malbrán”. (2024). *Reglas de derivación al Laboratorio Nacional de Referencia – Resistencia a los antimicrobianos 2024* [Documento técnico]. ANLIS. <https://antimicrobianos.com.ar/wp-content/uploads/2024/01/Reglas-de-derivacion-2024.pdf>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2023). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (33rd ed.). CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI.
- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas–ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. (2024). Informe de vigilancia de resistencia antimicrobiana en Argentina. Ministerio de Salud de la Nación. Recuperado de <https://www.argentina.gob.ar/salud/anlis>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021). Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2021. Ginebra: OMS.
- Marchiaro, P., Viale, A. M., & Bantar, C. (2019). Epidemiología y diagnóstico de carbapenemasas en Enterobacterales: situación en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(3), 267–276. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.08.003>
- Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. (2011). Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1791–1798. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110655>
- Pasteran, F., Denorme, L., Ote, I., Gómez, S., De Belder, D., Glupczynski, Y., Bogaerts, P., Ghiglione, B., Power, P., Mertens, P., & Corso, A. (2016). Rapid identification of OXA-48 and OXA-163 subfamilies in carbapenem-resistant Gram-negative bacilli with a novel immunochromatographic lateral-flow assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(11), 2832–2836. <https://doi.org/10.1128/JCM.01175-16>
- Pasteran, F., Tijet, N., Melano, R. G., & Corso, A. (2020). Carbapenemases in Enterobacteriaceae in Latin America: laboratory detection and clinical impact. *Current Treatment Options in Infectious Diseases*, 12(2), 123–139. <https://doi.org/10.1007/s40506-020-00208-4>
- World Health Organization (WHO). (2022). Global research agenda for antimicrobial resistance in human health. Geneva: WHO.

Rol del bioquímico en la detección de bacterias multirresistentes

Carnevale, Sebastián Ariel¹; Sempio, Roxana²; Di Cosco, Adriana²; Leguizamón, Daiana²; Martínez, Fernando²
Indelman, Paula³; Cerdan, M. Celeste³

¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Laboratorio de análisis clínico, Sanatorio Americano de Rosario.

³Área Parasitología, Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR.

INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana es una amenaza crítica de salud pública que eleva la morbilidad y los tiempos de internación. Los mecanismos de mayor impacto, como las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas (KPC, MBL, OXA), inactivan antibióticos de última línea. Por ello, la detección temprana es vital para ajustar la terapia y frenar la diseminación intrahospitalaria.

La práctica profesional del bioquímico y del bacteriólogo clínico adquiere un rol esencial. El laboratorio de bacteriología no solo se encarga de la identificación de los patógenos, sino también de la detección de los mecanismos de resistencia mediante pruebas fenotípicas y moleculares. Además de la comunicación interdisciplinaria para un correcto aislamiento de los pacientes.

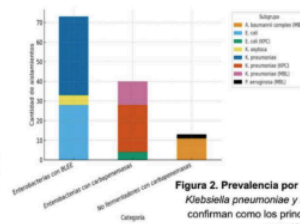
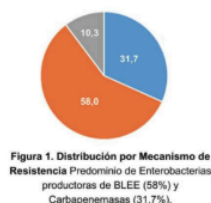
El presente trabajo, se centra en describir cómo, desde la práctica profesional del laboratorio clínico, se lleva adelante la búsqueda de bacterias multirresistentes y sus mecanismos de resistencia.

RESULTADOS

VIGILANCIA: Enero a Julio de 2025

Total Muestras: 306 hisopados anales. **Positividad: 41,2%** (126 pacientes portadores).

Categoría	Subgrupo	Cantidad
Enterobacterias con carbapenemasas	<i>K. pneumoniae</i> (KPC)	24
	<i>K. pneumoniae</i> (MBL)	12
	<i>E. coli</i> (KPC)	4
Enterobacterias con BLEE	<i>K. pneumoniae</i>	40
	<i>E. coli</i>	28
	<i>K. oxytoca</i>	5
No fermentadores con carbapenemasas	A. Baumannii complex (MBL)	11
	<i>P. aeruginosa</i> (MBL)	2



Aunque la mayoría fueron portadores asintomáticos, se documentó un caso de progresión a bacteriemia. Esto confirma que la colonización es un factor de riesgo crítico en pacientes con comorbilidades.

DISCUSIÓN

Rol Central del Bioquímico



Identificación y Caracterización: Diagnóstico certero del microorganismo y su mecanismo de resistencia (KPC, MBL, BLEE).



Notificación Inmediata: Comunicación directa del hallazgo crítico al equipo médico y Comité de Infectología.

METODOLOGÍA

TAMIZAJE INICIAL

Siembra hisopado anal en agar CLDE con discos marcadores (cefotaxima, cefepima, piperacilina/tazobactam y ertapenem) para detección de BLEE y carbapenemasas.

SELECCIÓN DE COLONIAS

Aislamiento de aquellas colonias que presenten crecimiento dentro o próximo a los halos de inhibición.

PRUEBAS CONFIRMATORIAS

Realización de Blue-Carba Test (hidrólisis rápida) y pruebas de inhibición con ácido bórico y EDTA para diferenciar mecanismos KPC y MBL.

IDENTIFICACIÓN Y ALERTA

Identificación bioquímica en paralelo a la notificación inmediata al Comité de Infectología para activar el aislamiento de contacto.



Imagen 1: Prueba de sensibilidad en agar CLDE

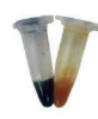


Imagen 2: Blue-Carba Test



Imagen 3: Ensayos de sinergia en agar MH. Superior: inhibición con Ácido Bórico (para KPC). Inferior: inhibición con EDTA (para MBL).

CONCLUSIONES

- El 41,2% de positividad confirma una circulación significativa de bacterias multirresistentes.
- En los pacientes inmunodeprimidos es fundamental realizar la vigilancia porque pueden evolucionar a una infección grave.
- La interacción fluida Laboratorio - Infectología es el pilar fundamental para prevenir la transmisión intrahospitalaria.
- Sostener estos programas es clave para garantizar la seguridad del paciente.

El laboratorio del síndrome antifosfolipídico, en un
efector privado de Rosario.

Alumna: Constanza Dana

Tutor: Federico Paggi

Institución: IBC, Instituto de Bioquímica Clínica

PRESENTACIÓN

En el marco de la práctica profesional de la carrera de Bioquímica, durante mi rotación en el área de Hematología en el laboratorio IBC (Instituto de Bioquímica Clínica de Rosario), pude adquirir habilidades en el manejo de equipos automatizados y semiautomatizados. Aprendí a realizar e interpretar hemogramas, incluyendo la lectura y análisis de los gráficos y parámetros hematológicos que acompañan estos estudios y que son fundamentales para evaluar adecuadamente el estado del paciente.

En el sector de coagulación de la misma área, profundicé en el uso de equipos semiautomatizados y en la comprensión de los fundamentos de cada técnica. Gracias a esto pude aprender en detalle el algoritmo que se utiliza en el laboratorio para el estudio del anticoagulante lúpico, una de las pruebas solicitadas por los médicos para estudiar la posibilidad de trombofilia en pacientes sospechosos. Junto con otros marcadores como lo son los anticuerpos anticardiolipina, anticuerpos anti- β 2-glicoproteína I, de los cuales también tuve la oportunidad de realizar su detección en el área de Serología del laboratorio. Decidí focalizarme específicamente en el diagnóstico de laboratorio del síndrome antifosfolipídico, ya que es una patología cuya comprensión y abordaje siguen evolucionando.

MARCO TEÓRICO

La **trombofilia** es un desorden del mecanismo hemostático donde se demuestra una **predisposición anormal a la trombosis**. Puede manifestarse como un evento tromboembólico espontáneo o de una severidad desproporcionada al estímulo, en el territorio venoso y ocasionalmente arterial, con una tendencia variable a la recurrencia. **La presencia de este factor predisponente no implica necesariamente la aparición de un evento trombótico**. La enfermedad trombótica es **multifactorial** como resultado de la conjunción de varios factores, genéticos, ambientales y de condiciones adquiridas que determinan la expresión clínica individual. Deben tenerse siempre presentes enfermedades sistémicas que pueden asociarse o predisponer a eventos trombóticos. Se clasifican en hereditarias y adquiridas. Dentro de las hereditarias podemos encontrar la deficiencia de antitrombina, deficiencia de proteína C, deficiencia de proteína S, factor V Leiden, protrombina 20210A, hiperhomocisteinemia/homocistinuria. Dentro de las **adquiridas** podemos encontrar al **síndrome antifosfolipídico (SAF)** y la hiperhomocisteinemia.

El **síndrome antifosfolípido**, se define como una **enfermedad autoinmune** que debe cumplir con **criterios clínicos y de laboratorio para poder ser diagnosticado**. La presencia de **manifestaciones trombóticas y/o morbilidad obstétrica** en pacientes que expresan de manera persistente anticuerpos antifosfolípidos en sangre, ya sea **anticardiolipinas (aCL)**, **anti- β 2 glicoproteína I (a β 2GPI) y/o anticoagulante lúpico (AL)**, es diagnóstico de SAF. El SAF puede ser primario, como una afección aislada, o secundario en el contexto de otra enfermedad autoinmune, especialmente el lupus eritematoso sistémico.

Los anticuerpos antifosfolípidos son un grupo heterogéneo de anticuerpos de isotipo IgG, IgM e IgA dirigidos contra fosfolípidos, complejos de fosfolípido-proteínas o proteínas de unión a fosfolípidos, localizados en la membrana de células endoteliales, plaquetas y demás células involucradas en la cascada de la coagulación. Dentro de los antígenos que son reconocidos por estos anticuerpos se encuentran: la β 2-glicoproteína I las cardiolipinas, la protrombina, la fosfatidilserina, el fosfatidilinositol, la anexina v, la proteína C, la proteína S, el activador del plasminógeno tisular, el factor VII, factor XI, factor XII, componente del complemento C4 y el factor del complemento H.

Fisiopatología del SAF

Implica interacciones complejas entre células inmunes, células endoteliales y la cascada de coagulación. Los anticuerpos antifosfolípidos son producidos por células B. Inicialmente, se creía que los aPL podían unirse a fosfolípidos aniónicos como cardiolipina y fosfatidilserina; sin embargo, más tarde se descubrió que los aPL se dirigen contra proteínas particulares de unión a fosfolípidos como la β 2 glicoproteína 1 (β 2-GPI), protrombina, anexina, etc. Estos anticuerpos interactúan con estas proteínas, cuya unión con a β 2GPI conduce a su cambio conformacional y dimerización (la forma inmunogénica de β 2GPI) pudiendo activar las células endoteliales, regular positivamente los factores procoagulantes y estimular los procesos inflamatorios, lo que contribuye significativamente a la patogénesis de la trombosis observada en el síndrome antifosfolípido.

Criterios de diagnóstico

Según los criterios de clasificación establecidos en 2006 durante el XI Congreso Internacional sobre autoanticuerpos antifosfolipídicos, el diagnóstico se puede realizar ante la presencia de al menos una manifestación clínica (trombosis o morbilidad gestacional) junto con la positividad (a título medio-alto) de uno o más anticuerpos antifosfolipídicos (aPL) en al

menos dos ocasiones con un intervalo de 12 semanas y hasta 5 años.

Criterios clínicos

- Trombosis vascular:

Uno o más episodios confirmados de trombosis arterial, venosa o de pequeños vasos en cualquier órgano o tejido, demostrados por estudios de imagen o histología sin evidencia de inflamación vascular significativa.

- Morbilidad del embarazo:

Muerte inexplicable de un feto morfológicamente normal a partir de la semana 10 de gestación.

Parto prematuro de un neonato normal antes de la semana 34 por eclampsia, preeclampsia grave o insuficiencia placentaria.

Tres o más abortos espontáneos consecutivos antes de la semana 10, sin causas anatómicas, hormonales o genéticas identificables.

Criterios de laboratorio

- Anticoagulante lúpico (AL):

Presente en plasma en dos o más determinaciones separadas por al menos 12 semanas, según las pautas de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia. Se debe evitar la clasificación de SAF si transcurren menos de 12 semanas o más de 5 años entre la prueba de aPL positiva y la manifestación clínica.

- Anticuerpos anticardiolipina (aCL)

De isotipo IgG y/o IgM, en títulos medios o altos (>40 GPL/MPL), detectados por ELISA estandarizado en dos o más ocasiones separadas por al menos 12 semanas.

- Anticuerpos anti- β 2-glicoproteína I (a β 2GPI):

De isotipo IgG y/o IgM, en títulos medios o altos (>40 GPL/MPL), detectados por ELISA estandarizado en dos o más ocasiones separadas por al menos 12 semanas.

Los recientes Criterios de Clasificación del Síndrome Antifosfolípido del Colegio Americano de Reumatología (ACR)/Alianza Europea de Asociaciones de Reumatología (EULAR), diseñados para la uniformidad de los perfiles de riesgo de los pacientes en estudios clínicos, incluyen varias características no descritas en los criterios anteriormente mencionados. Estos criterios incluyen un sistema de puntuación (rango de puntuación de 1 a 7 puntos cada uno) dividido en seis dominios clínicos (tromboembolia venosa macrovascular, trombosis arterial

macrovascular, trombosis microvascular, obstétrico, valvular cardíaca y hematológico) y dos dominios de laboratorio similares a los criterios de Sapporo revisados. Los pacientes se clasifican como SAF si obtienen una puntuación ≥ 3 puntos en los dominios clínicos y ≥ 3 puntos en los dominios de laboratorio. La definición de persistencia de aPL no se ha modificado, pero el tiempo máximo entre un evento clínico y la persistencia de aPL positivos se ha reducido de 5 a 3 años. El diagnóstico de SAF en la práctica clínica habitual es menos restrictivo que los criterios de clasificación de SAF del ACR/EULAR, debe evitarse su aplicación estricta en la práctica clínica habitual para el diagnóstico de pacientes individuales.

Epidemiología del SAF

Estimar la frecuencia de SAF ha sido un desafío debido a los cambios en la definición de los criterios de clasificación de SAF, la falta de estandarización para detectar aPL, las diferencias en los puntos de corte de laboratorio y otras dificultades como confirmar la positividad de aPL 12 semanas después de la medición inicial.

RESULTADOS

Se realiza una descripción y desarrollo de las técnicas utilizadas en el laboratorio clínico, las cuales forman parte de los criterios de diagnóstico del SAF.

Detección de anticoagulante lúpico AL

Los criterios diagnósticos de AL dados por la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia, son cuatro: prolongación de los ensayos de coagulación dependientes de fosfolípidos (pruebas de screening), evidencia del efecto inhibitorio a través de las pruebas de mezcla con pool de plasma normales (PPN), demostración de la dependencia de fosfolípidos del inhibidor (pruebas confirmatorias), diferenciar AL de otras coagulopatías o considerar que puedan ocurrir simultáneamente.

La técnica empleada y desarrollada a continuación es la elegida en el Laboratorio IBC para evaluar la presencia del AL. Para ello se emplea un equipo semi automatizado, bajo condiciones controladas y siguiendo la técnica y consideraciones necesarias para una correcta ejecución.

Consideraciones preanalíticas

- Previo al estudio, el paciente debe ser interrogado y se deben registrar todos los antecedentes clínicos de importancia y toda la medicación que se encuentre recibiendo, no sólo drogas anticoagulantes.

- Las determinaciones de laboratorio deben ser realizadas sobre muestras tomadas en ayunas y preferiblemente por la mañana.
- Se utiliza citrato de sodio 3,2% como anticoagulante, en proporción 1:9 (anticoagulante:sangre).
- Las pruebas se realizan en plasma pobre en plaquetas (PPP). Para esto se debe realizar un proceso de doble centrifugación. Centrifugar durante 15 minutos a una velocidad de 3.000-3.500 rpm, transferir el plasma a un nuevo tubo y repetir el proceso. Finalmente, transferir el plasma a otro tubo.
- Las pruebas deben realizarse con muestras frescas, como máximo hasta 4 horas después de haber sido extraídas. Si no es posible se puede congelar a -70°C. Para descongelar se debe realizar en baño a 37°C.

Etapas analíticas

- Pruebas de rutina

Aportan información acerca de la integridad de la muestra, ayudan a determinar la presencia de agentes farmacológicos y permiten detectar o descartar otras alteraciones de la coagulación presentes en el plasma que puedan mimetizar, enmascarar o coexistir con la presencia de AL. Las pruebas evalúan distintas etapas del mecanismo de coagulación, las cuales se describen brevemente a continuación.

Tiempo de protrombina (TP): prueba en una etapa que evalúa la vía extrínseca de la coagulación y el tronco común. Los reactivos comerciales contienen: factor tisular de distinto origen (animal, humana o recombinante), fosfolípidos, cloruro de calcio. Puede contribuir a: evaluar la integridad de la muestra, sospechar terapia con antagonistas de la vitamina K, inhibidores directos de trombina o inhibidores directos del FXa (dependiendo de su sensibilidad), así como evidenciar deficiencia de factores de las vías extrínseca o tronco común.

Tiempo de tromboplastina parcial activada (KPTT): evalúa la vía intrínseca y el tronco común. Ensayo en dos etapas que consiste en la activación in vitro de la coagulación a través de la fase de contacto (con activadores de carga negativa), una fuente de fosfolípidos y posterior recalcificación del plasma. La prueba permite: identificar defectos cualitativos y cuantitativos en la vía intrínseca y tronco común de la coagulación, detectar inhibidores específicos y no específicos de la coagulación.

La deficiencia de factores se puede sospechar por medio de pruebas de mezcla, si se observa que hay una corrección del plasma del paciente con el pool de plasma normales, entonces podríamos inferir que se trata de una deficiencia. En el algoritmo (Fig.1) se puede ver más detallado.

Tiempo de Trombina (TT): evalúa la conversión de fibrinógeno a fibrina en presencia de trombina. Permite detectar: presencia de heparina, defectos cualitativos y/o cuantitativos del fibrinógeno, niveles elevados de productos de degradación del fibrinógeno/ fibrina. Los reactivos comerciales difieren en el origen de la trombina usada en su fabricación (humana o bovina).

Fibrinógeno : evalúa la concentración funcional de fibrinógeno, una proteína clave en la formación del coágulo, ya que es el precursor de la fibrina. Para esto se utiliza trombina como reactivo, para poder permitir la activación del fibrinógeno a fibrina. Su valor se obtiene extrapolando el tiempo en que se forma el coágulo en una curva de calibración (tiempo vs cc de fibrinógeno).

- **Pruebas para la detección de AL**

El objetivo es detectar la presencia del AL por la prolongación de los ensayos de coagulación dependientes de fosfolípidos.

- Pruebas de screening

KPTT modificado o KPTT AL: la magnitud en que la prueba de APTT se verá afectada por el AL dependerá principalmente de la concentración y composición de fosfolípidos del reactivo, aunque podrían influir, además, las características del activador de la fase de contacto. Los diferentes reactivos difieren en: origen de los fosfolípidos, tipo, proporción y concentración de fosfolípidos, configuración de los fosfolípidos y sistema de contacto.

Tiempo de veneno de víbora Russell diluido (dRVVT): el veneno de la víbora de Russell posee una fracción enzimática que activa directamente el FX a FXa en presencia de PL. Mide el efecto del AL sobre el complejo protrombinasa formado a partir de la activación del FX.

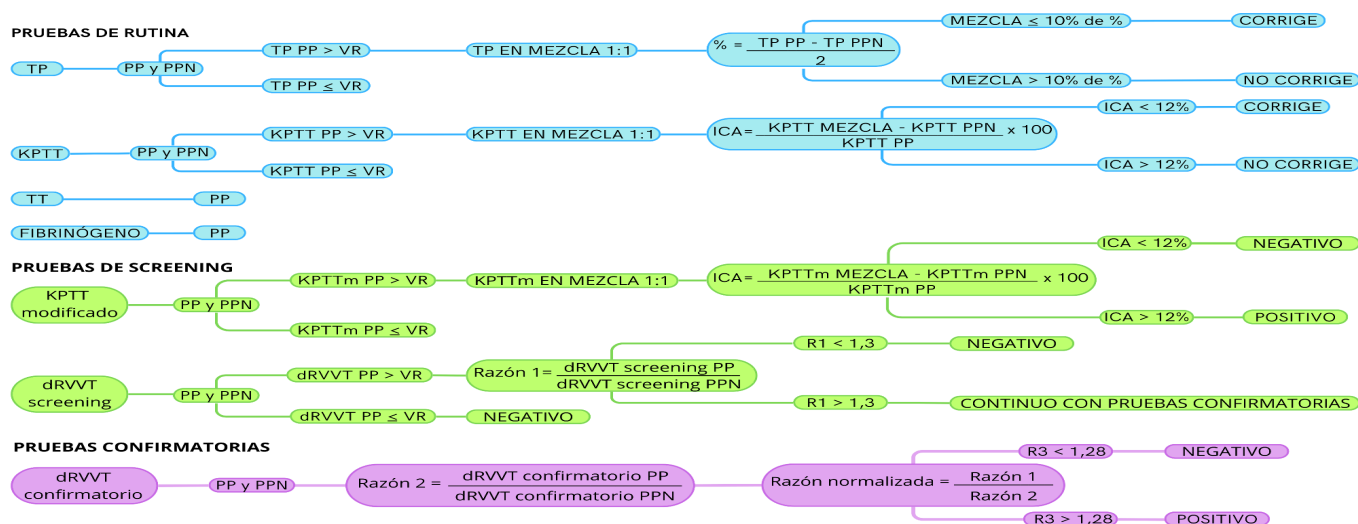
- Pruebas confirmatorias

Las guías coinciden en que los ensayos confirmatorios se deben realizar sobre la misma prueba de screening que dio alterada, en presencia de un exceso de fosfolípidos para neutralizar el efecto de AL.

dRVVT confirmatorio: el dRVVT confirmatorio forma parte de un sistema pareado (con el

mismo fundamento que el dRVVT screening), que utiliza un reactivo comercial con exceso de fosfolípidos con el fin de neutralizar el efecto de AL.

Algoritmo de trabajo para el estudio del AL



(Fig. 1: algoritmo de trabajo para el estudio del AL).

Análisis de resultados

En el algoritmo se utilizan los siguientes **valores de referencia (VR)** para la interpretación de las pruebas:

TP: TASA < 70

KPTT: 24'' - 36''

TT: <13,6

FIBRINÓGENO: (175-400 mg/dl)

KPTT modificado: 36'' - 45''

dRVVT: 36'' - 45''

Para las pruebas de mezcla de pool de plasmas normales (PPN) y el plasma del paciente (PP) se calcula el **Índice de anticoagulante circulante (ICA)** o **Índice de Rosner** que considera el grado de corrección de la muestra en relación al valor basal del paciente. Por otro lado, para las pruebas de screening y confirmatorias se calcula la **Razón normalizada**, para poder determinar si una prueba es prolongada.

Detección de anticuerpos anti cardiolipina

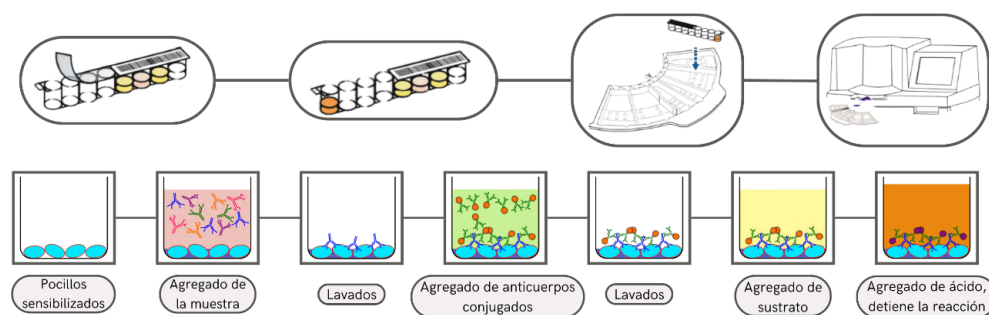
Un ELISA que permite la medición cuantitativa de autoanticuerpos de clase IgG e IgM contra la CL en suero o plasma humano. Se basa en una reacción inmunoenzimática indirecta.

Detección de anticuerpos anti β 2 glicoproteína I

Un ELISA que permite la medición cuantitativa de autoanticuerpos de clase IgG e IgM contra la β 2GPI en suero o plasma humano. Se basa en una reacción inmunoenzimática indirecta.

Para esto se utilizan kits comerciales. Los kits disponen de tiras con micropocillos, los cuales contienen conjugado de enzimas, sustrato de enzimas, buffer de muestra y un control específico del ensayo. También contiene un micropocillo para colocar la muestra, y los micropocillos sensibilizados necesarios para permitir la reacción de la muestra y del control.

Se incluye en la (Fig 2.) un diagrama esquemático de los elementos utilizados y la técnica descrita a continuación.



(Fig. 2: esquema representativo de las tiras reactivas y el aparato utilizado para la detección de los anticuerpos y del ELISA indirecto. Elaboración propia basado en Video ELISA INDIRECTO).

1) Sensibilización de los micropocillos

- Para la detección de anti cardiolipinas se utiliza cardiolipina altamente purificada, la cual recubre los micropocillos saturados con β 2GPI.
- Para la detección de $\alpha\beta$ 2GPI se utilizan micropocillos sensibilizados con β 2GPI altamente purificada.

Los siguientes pasos son compartidos para la detección de ambos anticuerpos.

- 2) Los anticuerpos específicos de la muestra del paciente se unen al antígeno recubierto en la superficie de los pocillos de reacción.
- 3) Tras la incubación, un lavado elimina los componentes del suero o plasma no unidos o unidos de forma inespecífica.
- 4) Posteriormente, el conjugado enzimático añadido se une a los complejos antígeno-anticuerpo inmovilizados. El conjugado será un anticuerpo anti IgG o anti

IgM, provistos en cada kit.

- 5) Tras la incubación, un segundo lavado elimina el conjugado enzimático no unido.
- 6) Tras la adición de la solución de sustrato, el conjugado enzimático unido hidroliza el sustrato, formando un producto de color azul. La adición de un ácido detiene la reacción, generando un producto final amarillo. La intensidad del color amarillo se correlaciona con la concentración del complejo antígeno-anticuerpo y puede medirse fotométricamente a 450 nm.
- 7) Para la obtención de resultados cuantitativos se debe realizar una curva de calibración. El sistema se calibra con Suero de Harris, IRP 97/656 (IgG), HCAL (IgG) / EY2C9 (IgM). La concentración en la muestra del paciente se puede obtener mediante interpolación en la curva de calibración.

CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVA

El laboratorio clínico tiene una gran importancia en el diagnóstico del SAF, ya que los resultados obtenidos por el mismo van a ser interpretados y utilizados por médicos para poder evaluar la posibilidad de diagnóstico y como consecuencia la posibilidad de un tratamiento profiláctico si correspondiera, como sería el uso de terapia ACO.

El médico es quien decide investigar acerca de la posibilidad de que un paciente presente SAF, es fundamental asegurar una correcta selección del paciente, los criterios clínicos están bien establecidos en este sentido. Sin embargo, es importante recordar que las causas de un evento trombotico son multifactoriales, requieren de un desequilibrio en el mecanismo hemostático para producirse. Por lo que ante la presencia de alguna de las manifestaciones clínicas mencionadas no se debe centrar solo en esta patología, recordar que el SAF se encuentra dentro de las trombofilias y sus causas son múltiples. Por esto mismo se aconseja, de acuerdo al evento trombotico, estudiar otros marcadores como lo pueden ser antitrombina, proteína C, proteína S, factor V Leiden, protrombina 20210A, hiperhomocisteinemia/homocistinuria, entre otros. Es importante también considerar antecedentes del paciente, familiares que hayan cursado eventos tromboticos, una anamnesis bien formulada y completa es necesaria para poder evaluar al paciente.

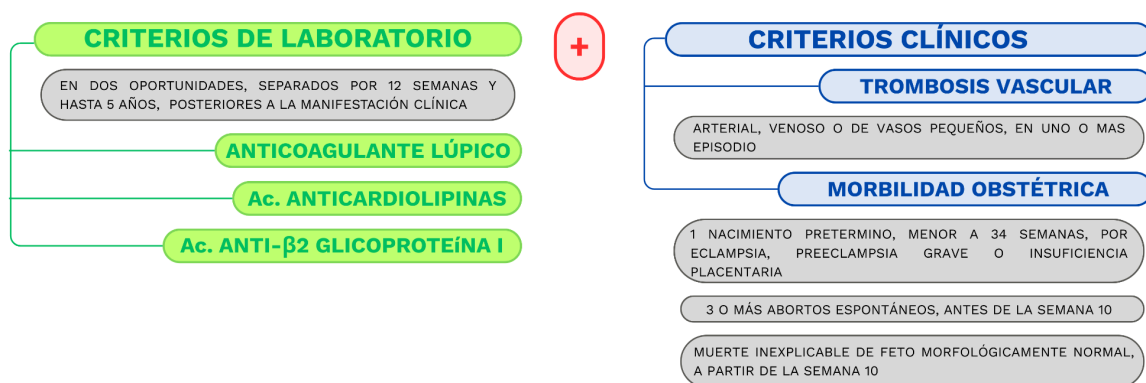
Al igual que el médico, el rol del bioquímico es fundamental. También en la anamnesis del paciente, la recolección de la mayor cantidad de información posible para la interpretación de resultados, así como también de aconsejar al médico acerca de otras posibles

determinaciones que se puedan realizar, si así lo considera, para lograr un mejor diagnóstico y en el menor tiempo posible.

En relación a las determinaciones de laboratorio es esencial utilizar métodos validados, reactivos sensibles y controles apropiados, aplicando algoritmos bien definidos para la detección del AL y para la medición de anticuerpos aCL y a β 2GPI. Se deben emplear pruebas confirmatorias, establecer valores de corte propios del laboratorio y comprender las limitaciones técnicas. En el caso del AL es importante remarcar que las pruebas durante la fase aguda, como poco después de un evento trombótico, deben interpretarse con precaución debido a posibles interferencias con el resultado de la prueba debido a los niveles elevados de FVIII que acortan el KPTT o proteína C reactiva por interferencia con fosfolípidos en el reactivo, prolongando las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos, el primero puede enmascarar AL y el último puede producir resultados falsos positivos. Sin embargo, las pruebas durante la fase aguda pueden ser necesarias, por ejemplo, en pacientes con sospecha de SAF catastrófico, o con TVP, trombosis arteriales o en sitios inusuales, manifestaciones obstétricas. También se debe tener en cuenta la posibilidad de que se puedan encontrar aCL en enfermedades infecciosas, como sífilis, fiebre Q e infección por VIH. En estas condiciones, los títulos suelen ser bajos, el isotipo dominante es IgM, pero generalmente no se asocian a fenómenos trombóticos.

La correcta interpretación de los resultados requiere correlación clínica y la repetición obligatoria de las pruebas a las 12 semanas y hasta 5 años del evento trombótico, para confirmar la persistencia de los autoanticuerpos mencionados. En conjunto, un manejo riguroso de las tres etapas del laboratorio clínico garantiza que el mismo proporcione información confiable y útil para el diagnóstico integral del SAF, contribuyendo a una adecuada evaluación del riesgo trombótico y a la toma de decisiones terapéuticas por parte del equipo médico.

Se presenta un resumen esquemático de los criterios de diagnóstico del SAF (Fig. 3).



(Fig. 3: criterios de diagnóstico del SAF. Elaboración propia basado en un esquema presentado por la Sociedad Argentina de Reumatología. Grupo de estudio Síndrome Antifosfolípídico (GESAF)).

Finalmente, tener en cuenta que el mayor beneficiario de la puesta en práctica de todas estas consideraciones deben ser los pacientes, a quienes se debe informar claramente todo lo relacionado al diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Calmar inquietudes, agilizar los tiempos, recordar que no se trata solo de salud física, sino también psicológica. Empatizar con los pacientes, lograr su comprensión y su compromiso es fundamental.

BIBLIOGRAFÍA

- Alejandra Scazzioti, Alicia Blanco y otros. (2019). Guía para el estudio de anticoagulante lúpico. Editado por el Grupo CAHT en Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-21580-6-4.
Página Web: <https://www.grupocaht.com/2019-guia-para-el-estudio-de-anticoagulante-lupico/>
- Gallo, María del Carmen, Sánchez Lucero, Analía. (2023). Hemostasia y trombosis.
Página Web: https://www.sah.org.ar/docs/guias/2023/Hemostasia_y_Trombosis-Guia_2023-Libro.pdf
- Deepa J. Arachchillage, Sean Platton, Kieron Hickey, Justin Chu, Mateo Pickering, Peter Sommerville, Peter MacCallum, Karen Breen, el Comité BSH. (2024). Directrices para la investigación y el tratamiento del síndrome antifosfolípido. Página Web: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bjh.19635#bjh19635-bib-004>
- [Katrien MJ Devreese](#), [Philip G. de Groot](#), [Bas de Laat](#), [Doruk Erkan](#), [Emmanuel J. Favaloro](#), [Ian Mackie](#), [Marta Martinuzzo](#), [Thomas L. Ortel](#), [Vittorio Pengo](#), [Jacob H. Rand](#), [Armando Tripodi](#), [Denis Wahl](#), [Hannah Cohen](#). (2020). Orientación del Comité Científico y de Estandarización para anticuerpos anticoagulantes/antifosfolípidos lúpicos de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia. Página Web: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1538783622037254>
- [Vasileios Patriarcheas](#), [Georgios Tsamos](#), [Dimitra Vasdeki](#), [Elias Kotteas](#), [Anastasios Kollias](#), [Dimitris Nikas](#), [Georgia Kaiafa](#), [Evangelos Dimakakos](#). (2025). Síndrome antifosfolípido: una revisión clínica completa. Página Web: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11818257/>
- Jesse Y Dabit, María O Valenzuela-Almada, Sebastián Vallejo-Ramos, Alí Duarte-García. (2022). Epidemiología del síndrome antifosfolípido en la población general. Página Web: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8727975/>
- Tatiana Méndez-Rayoa, Laura Ochoa-Záratea, Iván Posso-Osorio, Eliana Ortiz, Juan Naranjo-Escobar, Gabriel J. Tobón. (2018). Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. Página Web: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-colombiana-reumatologia-374-articulo-interpretacion-autoanticuerpos-enfermedades-reumatologicas-S012181231830029X>
- Sociedad Argentina de Reumatología. Grupo de estudio Síndrome Antifosfolipídico

(GESAF). (s.f). Página Web:

https://www.reumatologia.org.ar/recursos/manual_del_registro.pdf

- Orgentec Diagnostika GmbH (2024). Anti-beta-2-Glicoproteína I IgG. Página Web: https://products.orgentec.com/pdfs/ifu/ORG%20221G_IFU_EN_QM113068_2024-10-01_6.pdf
- Orgentec Diagnostika GmbH (2024). Anti-beta-2-Glicoproteína I IgM. Página Web: https://products.orgentec.com/pdfs/ifu/ORG%20221M_IFU_EN_QM113069_2024-10-01_6.pdf
- Orgentec Diagnostika GmbH (2024). Anti-Cardiolipin IgG. Página Web: https://products.orgentec.com/pdfs/ifu/ORG%20215G_IFU_EN_QM113059_2024-10-01_6.pdf
- Orgentec Diagnostika GmbH (2024). Anti-Cardiolipin IgG. Página Web: https://products.orgentec.com/pdfs/ifu/ORG%20215M_IFU_EN_QM113060_2024-10-01_7.pdf
- Rosario San Millán Gutierrez. [Rosario San Millán] (30 de octubre de 2016). Video ELISA INDIRECTA [Video]. Youtube <https://www.youtube.com/watch?v=KrGC0ZgIDI8>

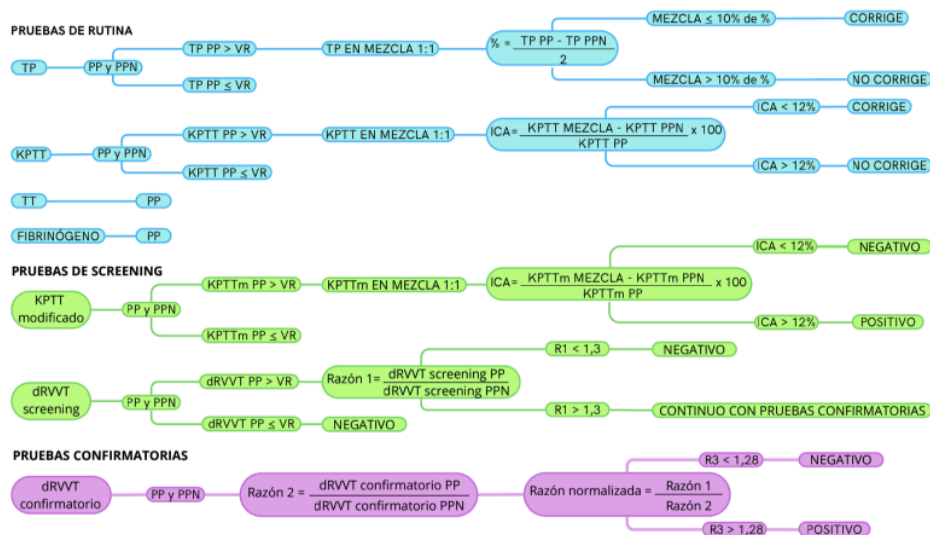
"El laboratorio del síndrome antifosfolipidico, en un efector privado de Rosario"

¹Constanza Dana, ¹Federico Paggi, ²Delia Ostera
¹Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. UNR.
²IBC Laboratorios. Instituto de Bioquímica Clínica de Rosario.

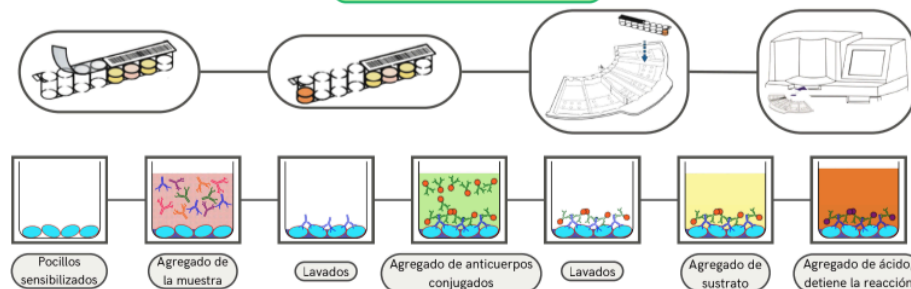
CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DEL SAF



ALGORITMO DE TRABAJO PARA EL ANTICOAGULANTE LÚPICO:



DETECCIÓN DE ANTICUERPOS



CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVA

La decisión de investigar un posible SAF depende del médico, quien debe seleccionar adecuadamente al paciente según los criterios clínicos establecidos, recordando que los eventos trombóticos son multifactoriales y que el SAF es solo una de las posibles trombofilias. Por eso, suele ser necesario estudiar otros marcadores. El bioquímico también cumple un rol clave: recolectar información relevante para interpretar los resultados y orientar sobre estudios complementarios cuando corresponda. En el laboratorio, se deben utilizar métodos validados, reactivos sensibles y algoritmos bien definidos para detectar los autoanticuerpos, con pruebas confirmatorias y valores de corte propios. Las pruebas de AL en fase aguda deben interpretarse con cautela por posibles interferencias. También es importante reconocer que los autoanticuerpos pueden aparecer en infecciones generalmente en títulos bajos y sin relación con trombosis. La interpretación final requiere correlación clínica y repetir las pruebas a las 12 semanas y hasta los 5 años pasado el evento trombótico, para confirmar la persistencia de los anticuerpos. En toda instancia, el objetivo es beneficiar al paciente, brindando información clara, acompañamiento y contención para favorecer su comprensión y bienestar.

Histoplasmosis

Aplicación de métodos del laboratorio
Clínico para el diagnóstico dentro de un área endémica

**Práctica Profesional Obligatoria
Año 2025**

Autores: Grossi, Vanesa. Pasquali, Fausto

Tutor: Dalmaso, Hernán

Área: Micología – Centro de Especialidades Médicas Rosario (CEMAR)

Marco teórico

La histoplasmosis es una micosis sistémica causada por el hongo dimórfico nutricional y termal *Histoplasma capsulatum*, que afecta principalmente al sistema reticuloendotelial de humanos y animales. Taxonómicamente, *H. capsulatum* pertenece al filo Ascomycota, clase Euascomycetes, orden Onygenales y familia Ajellomycetaceae.

Este hongo en su fase saprofítica filamentosa habita suelos enriquecidos con excrementos de aves (gallinas, palomas) y murciélagos, especialmente en condiciones de temperatura (22-29°C) y humedad (67-87%) óptimas. La infección se adquiere por inhalación de conidias, lo que puede dar lugar a una primoinfección pulmonar, generalmente asintomática o autolimitada en pacientes inmunocompetentes. O bien puede dar histoplasmosis progresiva y diseminada en pacientes inmunodeprimidos.

Las manifestaciones clínicas son variables y van a depender del tamaño del inóculo y del estado inmunológico del paciente e incluyen:

- Síntomas constitucionales: fiebre, pérdida de peso, adenopatías, hepatoesplenomegalia.
- Síntomas respiratorios: tos, disnea, infiltrados pulmonares.
- Compromiso cutáneo, mucoso o del sistema nervioso central en algunos casos.

Entre los factores de riesgo más importantes se encuentran:

- Infección por VIH/sida con recuento de CD4 bajo.
- Leucemias y Linfomas.
- Uso de corticosteroides o inmunosupresores.
- Exposición ambiental a suelos contaminados con guano de aves o murciélagos.
- Residencia o viaje a zonas endémicas.

Las formas clínicas incluyen pulmonares agudas, crónicas o cavitarias, así como formas diseminadas agudas, subagudas o crónicas. El diagnóstico se basa en métodos directos (examen microscópico, cultivo, detección de antígenos galactomananos en orina o suero, y técnicas moleculares como PCR anidada o en tiempo real) e indirectos (pruebas serológicas como inmunodifusión, fijación del complemento y prueba cutánea con histoplasmina). El diagnóstico diferencial debe considerar tuberculosis, coccidioidomicosis, leishmaniasis y neoplasias, entre otras.

La distribución geográfica abarca más de 60 países, con zonas endémicas en América, especialmente en los valles de los ríos Ohio y Mississippi, Centroamérica, Sudamérica (incluyendo Argentina, donde la región de la Pampa Húmeda presenta alta endemidad), y casos esporádicos en África, Asia y Europa.

Métodos para diagnóstico de *Histoplasma capsulatum*.

1. Detección de antígeno urinario (ELISA):

Descripción: Es la *prueba de elección recomendada por la OPS/OMS* para el diagnóstico rápido de histoplasmosis, en pacientes inmunocomprometidos (por ejemplo, con SIDA). Detecta *polisacáridos del antígeno del hongo* que se eliminan por orina y, en menor medida, por suero.

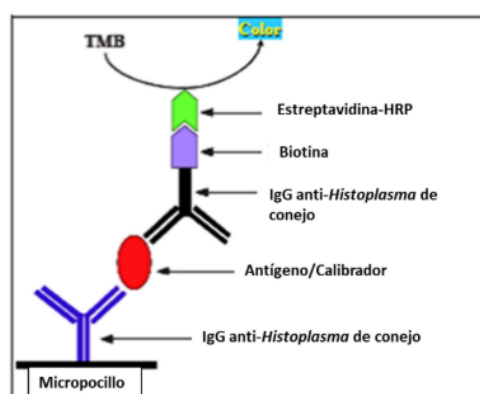


Fig. 1: Esquema de ELISA tipo sándwich para Ag urinario de histoplasma.

Ventajas:

- Alta sensibilidad (95–98%) y especificidad (97–98%).

- Resultados disponibles en pocas horas.
- Útil para el *seguimiento de la evolución clínica* y respuesta al tratamiento, ya que los niveles del antígeno disminuyen con la mejoría del paciente.
- Detecta tanto infecciones diseminadas como pulmonares graves.

Limitaciones:

- Puede presentar *reacciones cruzadas* con otros hongos dimórficos como *Blastomyces dermatitidis* o *Paracoccidioides brasiliensis*.
- Menor sensibilidad en formas localizadas leves.

Comercialización:

Test comercial *IMMY® Histoplasma Galactomannan (HGM) ELISA*, basado en anticuerpos monoclonales.

2. Ensayo de Flujo Lateral (EFL) para detección de antígeno de Histoplasma capsulatum:

Descripción: El Ensayo de Flujo Lateral (EFL) de MiraVista® es una prueba inmunocromatográfica rápida para la detección del antígeno galactomanano de *Histoplasma capsulatum* en orina. Representa una alternativa práctica y de bajo requerimiento técnico al ELISA, especialmente útil en entornos de baja complejidad o cuando se necesita un resultado inmediato.

Ventajas:

- Resultados en aproximadamente 40 minutos.
- Utiliza una muestra no invasiva (orina).
- Procedimiento sencillo, sin necesidad de equipamiento especializado.
- Sensibilidad clínica de 93,18 % y especificidad de 96,96 %.
- Útil como prueba de tamizaje en pacientes inmunocomprometidos con sospecha de histoplasmosis diseminada.

Limitaciones:

- Límite de detección de 1,8 ng/mL (menor sensibilidad que ELISA en cargas antigénicas bajas).
- Puede presentar reactividad cruzada con otros hongos dimórficos.

3. Cultivo:

Descripción: Es el *método confirmatorio* más específico, aunque requiere tiempo prolongado y condiciones de bioseguridad adecuadas debido al riesgo de infección por esporas.

Medios de cultivo habituales:

- Agar Sabouraud dextrosa.
- Mycosel (Sabouraud + cicloheximida y cloranfenicol).
- Agar sangre.

Condiciones y tiempo:

- Incubación a temperatura ambiente (28 °C) para observar la *fase micelial*.
- Luego se subcultura a 37 °C para inducir la *fase levaduriforme* (dimorfismo térmico).
- El crecimiento puede demorar entre 2 a 6 semanas.

Sensibilidad:

- Variable según la muestra y el estado inmunológico del paciente.
- En pacientes inmunocomprometidos suele ser *baja* (~50%).

4. Pruebas serológicas:

Descripción: Detectan *anticuerpos específicos contra antígenos de Histoplasma capsulatum*.

Las principales técnicas son:

- **Inmunodifusión (ID):** detecta bandas M y H (M = infección reciente o pasada, H = infección activa o diseminada).

- **Fijación del complemento (FC):** cuantifica títulos de anticuerpos, útil para seguimiento.

Ventajas:

- Buena especificidad en pacientes inmunocompetentes.
- Permite evidenciar una infección reciente o pasada.

Limitaciones:

- Poca sensibilidad en inmunodeprimidos (no desarrollan respuesta humoral adecuada).
- Puede existir reacción cruzada con otros hongos dimórficos.

5. Histopatología:

Descripción: Permite la *observación directa del hongo en muestras clínicas* (biopsia, médula ósea, aspirado ganglionar, extendido de sangre periférica o médula).

Hallazgos característicos:

- Presencia de *levaduras pequeñas (2–5 μ m), ovaladas, intracelulares dentro de macrófagos*.
- No forman cápsula verdadera, aunque pueden parecer encapsuladas por un halo claro.

Tinciones utilizadas:

- **Giemsa o Wright:** permite visualizar las levaduras intracelulares.
- **PAS (ácido peryódico de Schiff) y Grocott-Gomori (GMS):** tiñen la pared fúngica, facilitando la identificación.

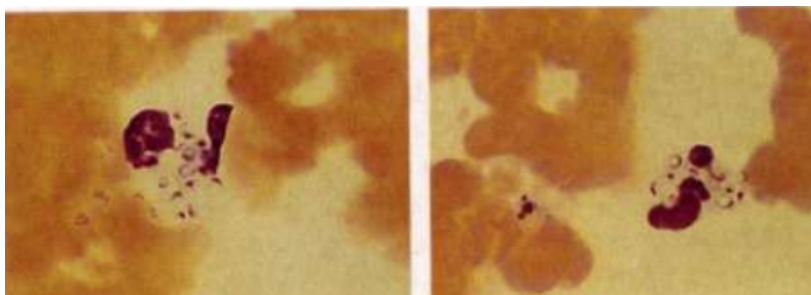


Fig. 2: Levaduras intracelulares en extendido de sangre compatibles con *H. capsulatum* Tinción de Wright, 100x.

6. Molecular:

Descripción: La *reacción en cadena de la polimerasa (PCR)* permite detectar ADN del hongo en muestras clínicas.

Ventajas:

- Alta sensibilidad y especificidad teórica.
- Posible detección temprana incluso antes de la respuesta inmune o del cultivo positivo.

Limitaciones:

- Escasa disponibilidad en laboratorios clínicos.
- Falta de estandarización y validación por organismos internacionales.

Casos clínicos

Caso clínico 1:

Edad y sexo: 71 años, masculino.

Antecedentes: Fumador. Contacto zona rural.

Motivo de consulta: Paladar duro y cuadro respiratorio.

Diagnóstico: Serología HIV, HEP B Y C: todas negativas.

HISUR: Negativo.

Hemocultivo micológico: No se obtuvo desarrollo fúngico.

Banda de identidad con Histoplasma. Título: 1/16.

Tratamiento: Se instauró tratamiento antifúngico con itraconazol 200 mg cada 12 horas por vía oral, durante las primeras 12 semanas, seguido de 200 mg diarios por un período de 6 meses como mantenimiento. Se realizó monitoreo de niveles séricos de itraconazol y evaluación hepática mensual.

Evolución: Durante el primer mes se observó una mejoría clínica progresiva con desaparición de la fiebre y regresión de las lesiones orales. El control radiológico evidenció resolución



Img. 1: Paladar del paciente con presencia de úlceras necrosadas.

parcial de los infiltrados pulmonares. A los seis meses de seguimiento el paciente se encontraba asintomático, con serología en descenso (título 1/4) y radiografía de tórax sin lesiones activas. No se evidenciaron recaídas tras un año de control.

Caso clínico 2:

Edad y sexo: 73 Años, masculino.

Antecedentes: Fumador. Trabajo rural.

Motivo de consulta: Lengua y pulmón

Diagnóstico: Serología HIV, HEP B Y C: todas negativas.

Cultivo micológico negativo de biopsia de lengua.

PCR biopsia de lengua: negativo (MALBRÁN).

HISUR: No realizado.

Banda de identidad con Histoplasma. Título: 1/16

Tratamiento: Dada la sospecha de histoplasmosis crónica localizada, se indicó itraconazol 200 mg cada 12 horas durante seis meses. Se descartó compromiso diseminado mediante estudios complementarios (hemocultivos, función hepática, y evaluación de médula ósea).



Evolución: El paciente presentó buena tolerancia al tratamiento, con resolución completa de las lesiones linguales y mejoría de los síntomas respiratorios a los dos meses. Los controles serológicos mostraron descenso progresivo de títulos, y no se observaron signos de reactivación a los 9 meses.

Caso clínico 3:

Edad y sexo: 32 años, masculino.

Antecedentes: Paciente HIV positivo con recuentos de linfocitos CD4 + menores a 100 células/uL.

Motivo de consulta: Internación debido a un cuadro respiratorio.

Diagnóstico: Serología para hepatitis A, B y C y Chagas: negativas.

Búsqueda de Acs para *Cryptococcus neoformans*,
Paracoccidioidomicosis, Histoplasmosis, Aspergilosis: negativo.

Detección de galactomanano de *Histoplasma capsulatum* en orina: detectable.

En muestra de Lavado Broncoalveolar (BAL):

- En exámenes micológicos directos no se observaron elementos fúngicos y en la tinción con Azul de Toluidina para *Pneumocystis jirovecii* no se observaron estructuras compatibles con el mismo.
- En cultivo micológico se obtuvo desarrollo de *Histoplasma capsulatum*.
- Estudio por PCR de presencia de *Pneumocystis jirovecii*: detectable.

Tratamiento: Se comenzó con Anfotericina B liposomal vía oral, paralelamente a la terapia antirretroviral ya que el itraconazol reduce su efecto con estos fármacos. Luego de la mejoría clínica, se administró itraconazol oral 200 mg por un año.

Evolución: el paciente de forma paralela al tratamiento para la histoplasmosis, comenzó su terapia antirretroviral. Al cabo de un año presenta carga viral no detectable y un recuento linfocitario y leucocitario normales.

Discusión y conclusiones

La histoplasmosis diseminada en pacientes con VIH es una entidad subdiagnosticada y de alta letalidad en zonas endémicas. La implementación de pruebas de detección como la del antígeno urinario han permitido un diagnóstico más rápido y certero, reduciendo el tiempo hasta el tratamiento antifúngico específico. Ya que la OPS recomienda su implementación en pacientes con HIV con

recuentos linfocitarios menores a 100 cel/uL que esten cursando o sospechando una histoplasmosis diseminada.

Los casos presentados reflejan la utilidad del ELISA comercial (IMMY) en diferentes escenarios clínicos, así como la importancia de considerar la histoplasmosis en el diagnóstico diferencial de síndromes febriles en pacientes inmunocomprometidos.

La adherencia a las guías de la OPS/OMS sobre el uso de anfotericina B liposomal o desoxicolato en casos graves, e itraconazol en formas leves a moderadas, ha demostrado impactar positivamente en la supervivencia.

Perspectivas

Se recomienda fortalecer las estrategias diagnósticas y de vigilancia de la histoplasmosis en regiones endémicas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con factores de riesgo ocupacional.

Es necesario:

- Implementar programas de formación continua para el personal de salud, orientados al reconocimiento clínico y laboratorio de las micosis sistémicas, así como al manejo terapéutico según las guías de la OPS/OMS.
- Fomentar la vigilancia epidemiológica activa de casos de histoplasmosis asociados a VIH, incluyendo la notificación obligatoria y el registro en bases de datos regionales para dimensionar su impacto real en salud pública.
- Promover investigaciones sobre resistencia antifúngica y variabilidad genética de cepas autóctonas de *H. capsulatum*, lo que permitiría optimizar el tratamiento y la detección de brotes.

Estas medidas contribuirán a una detección temprana, diagnóstico preciso y tratamiento oportuno de la histoplasmosis, reduciendo su morbilidad y mortalidad, y reforzando el enfoque de salud pública frente a las micosis endémicas en Argentina.

Bibliografía:

Cáceres DH et al. (2018). Multicenter validation of commercial antigenuria reagents to diagnose progressive disseminated histoplasmosis in people living with HIV/AIDS. *Journal of Clinical Microbiology*.

OPS/OMS (2020). Directrices para el diagnóstico y manejo de la histoplasmosis diseminada en personas con VIH.

Gómez BL et al. (2018). Diagnóstico y seguimiento de la histoplasmosis en Colombia. *Clinical Vaccine Immunology*.

(Arenas R. (2008). *Micología Médica Ilustrada*. Tercera edición. Interamericana McGraw-Hill.

Ashraf N. et al. (2020). Re-drawing the Maps for Endemic Mycoses. *Mycopathologia*, 185:843–865.

Bonifaz A. (2015). *Micología Médica Básica*. 5ª ed. McGraw Hill.

Bracca A. et al. (2003). Molecular Detection of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* in Human Clinical Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4):1753-1755.

De Hoog G.S. et al. (2019). *Atlas of Clinical Fungi*. Versión 4.1.

Guarro J. (2012). Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30:33-39.

Guimarães A.J. et al. (2004). ELISA for Early Diagnosis of Histoplasmosis. *Journal of Medical Microbiology*, 54:509-514.

Hospenthal D.R., Rinaldi M.G. (2008). *Diagnosis and Treatment of Human Mycoses*. Humana Press.

Kasuga T. et al. (2003). Phylogeography of the Fungal Pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Molecular Ecology*, 12:3383-3401.

McKinsey D.S. et al. (1997). Prospective Study of Histoplasmosis in Patients Infected with HIV. *Clinical Infectious Diseases*, 24:1195-1203.

Muñoz C.O. et al. (2010). Detección e identificación de *Histoplasma capsulatum* por el laboratorio. *Infectio*, 14(S2):S145-S158.

Perrota D. et al. (2001). Caracterización molecular de aislamientos clínicos autóctonos de *Histoplasma capsulatum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 33:160-166.

Retallack D.M., Woods J.P. (1999). Molecular Epidemiology, Pathogenesis and Genetics of the Dimorphic Fungus *Histoplasma capsulatum*. *Microbes and Infection*, 1:817-825.

Sepúlveda V.E. et al. (2017). Genome Sequences Reveal Cryptic Speciation in the Human Pathogen *Histoplasma capsulatum*. *mBio*, 8:e01339-17.)

INTRODUCCIÓN

La histoplasmosis es una micosis sistémica causada por el hongo dimórfico nutricional y termal *Histoplasma capsulatum*, que afecta principalmente al sistema reticuloendotelial de humanos y animales.

Las manifestaciones clínicas son variables y van a depender del tamaño del inóculo, del estado inmunológico del paciente.

La infección se adquiere por inhalación de conidias, lo que puede dar lugar a una primoinfección pulmonar, generalmente asintomática o autolimitada en pacientes inmunocompetentes. O bien puede dar histoplasmosis progresiva y diseminada en pacientes inmunodeprimidos.

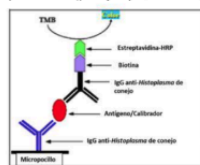
Las formas clínicas incluyen pulmonares agudas, crónicas o cavitarias, así como formas diseminadas agudas, subagudas o crónicas.

Para el diagnóstico diferencial se debe considerar a la tuberculosis, coccidioidomicosis, leishmaniasis, neoplasias, entre otras.

MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE *H. capsulatum*

1. Detección de antígeno urinario (ELISA):

Es la prueba de elección recomendada por la OPS/OMS para el diagnóstico rápido de histoplasmosis en pacientes inmunocomprometidos (por ejemplo, con SIDA).



Esquema de ELISA para la detección de Ag urinario.

2. Ensayo de Flujo Lateral (EFL):

El Ensayo de Flujo Lateral (EFL) es una prueba inmunocromatográfica rápida para la detección del antígeno galactomanano de *Histoplasma capsulatum* en orina.

3. Cultivo:

Es el método confirmatorio más específico, aunque requiere tiempo prolongado y condiciones de bioseguridad adecuadas debido al riesgo de infección por esporas.



4. Pruebas serológicas:

Detectan anticuerpos específicos contra antígenos de *Histoplasma capsulatum*.

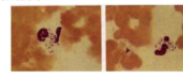
- **Inmunodifusión (ID):** detecta bandas M y H (M = infección reciente o pasada, H = infección activa o diseminada).
- **Fijación del complemento (FC):** cuantifica títulos de anticuerpos, útil para seguimiento.

5. Histopatología:

Permite la observación directa del hongo en muestras clínicas (biopsia, médula ósea, aspirado ganglionar, extendido de sangre periférica o médula).

Tinciones utilizadas:

- Giemsa o Wright: permite visualizar las levaduras intracelulares.
- PAS (ácido peryódico de Schiff) y Grocott-Gomori (GMS): tiñen la pared fúngica, facilitando la identificación.



Levaduras intracelulares en extendido de sangre compatibles con *H. capsulatum* Tinción de Wright, 100x.

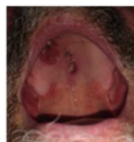
6. Molecular:

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite detectar ADN del hongo en muestras clínicas.

CASOS CLÍNICOS

Caso Clínico 1:

Paciente masculino de 71 años, fumador. Vive en zona rural. Presenta paladar duro y cuadro respiratorio. Serologías para HIV, VHB, VHC negativas. Hemocultivo micológico: negativo. Banda de identidad con *Histoplasma*: título 1/16. Inició tratamiento con itraconazol, donde hubo una mejoría de los síntomas y un descenso de la banda de identidad a título 1/4. También en la radiografía de tórax no se observaron lesiones activas. No se evidenciaron recaídas tras un año de control.



Paladar del paciente con presencia de úlceras necrosadas.

Caso Clínico 2:

Paciente masculino de 73 años, fumador. Trabajador rural. Presenta lesiones en lengua y pulmón. Serologías para HIV, VHB, VHC negativas. Cultivo de biopsia de lengua: negativo. PCR de biopsia de lengua: negativo (MALBRÁN). Banda de identidad con *Histoplasma*: título 1/16. Inició tratamiento con itraconazol, donde hubo una mejoría de los síntomas y las lesiones linguales a los dos meses. Se descartó compromiso diseminado mediante estudios complementarios.



Izquierda: lengua del paciente con úlceras antes del tto. Derecha: lengua del paciente luego del tto.

Caso Clínico 3:

Paciente masculino de 32 años, con recuento de linfocitos CD4+ menores a 100 células/uL. Serologías para VHA, VHB, VHC y Chagas: negativas. Se buscaron Acs para distintos hongos obteniendo resultado negativo. Detección de Ag urinario (HISUR): detectable. En cultivo micológico se obtuvo desarrollo de *H. capsulatum*. Inició tratamiento con Anfotericina B liposomal a la par de la terapia antirretroviral. Luego de la mejoría clínica, siguió el tratamiento con itraconazol. Al cabo de un año, presentó una mejoría clínica y posee recuentos linfocitarios y leucocitarios normales junto con una carga viral no detectable.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La histoplasmosis diseminada en pacientes con VIH es una entidad subdiagnosticada y de alta letalidad en zonas endémicas. La implementación de pruebas de detección como la del antígeno urinario han permitido un diagnóstico más rápido y certero, reduciendo el tiempo hasta el tratamiento antifúngico específico.

Se recomienda fortalecer las estrategias diagnósticas y de vigilancia de la histoplasmosis en regiones endémicas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con factores de riesgo ocupacional.

Es por eso que creemos necesaria la continua formación del personal de salud, orientados al reconocimiento clínico y del laboratorio de las micosis sistémicas, así como también su manejo terapéutico.

Por otro lado, fomentar la vigilancia epidemiológica activa de casos de histoplasmosis asociados a VIH, incluyendo la notificación obligatoria y el registro en bases de datos regionales para dimensionar su impacto real en salud pública.

Promover investigaciones sobre resistencia antifúngica y variabilidad genética de cepas autóctonas de *H. capsulatum*, lo que permitiría optimizar el tratamiento y la detección de brotes.

Estas medidas contribuirán a una detección temprana, diagnóstico preciso y tratamiento oportuno de la histoplasmosis, reduciendo su morbilidad y mortalidad, y reforzando el enfoque de salud pública frente a las micosis endémicas en Argentina.

Estudio de un paciente con cáncer de cola de páncreas

Autor: Sabrina Oppici

Tutor: Dr Raul Supersaxco

Institución de rotación: Laboratorio de Análisis Clínicos Dr Supersaxco

PRESENTACIÓN:

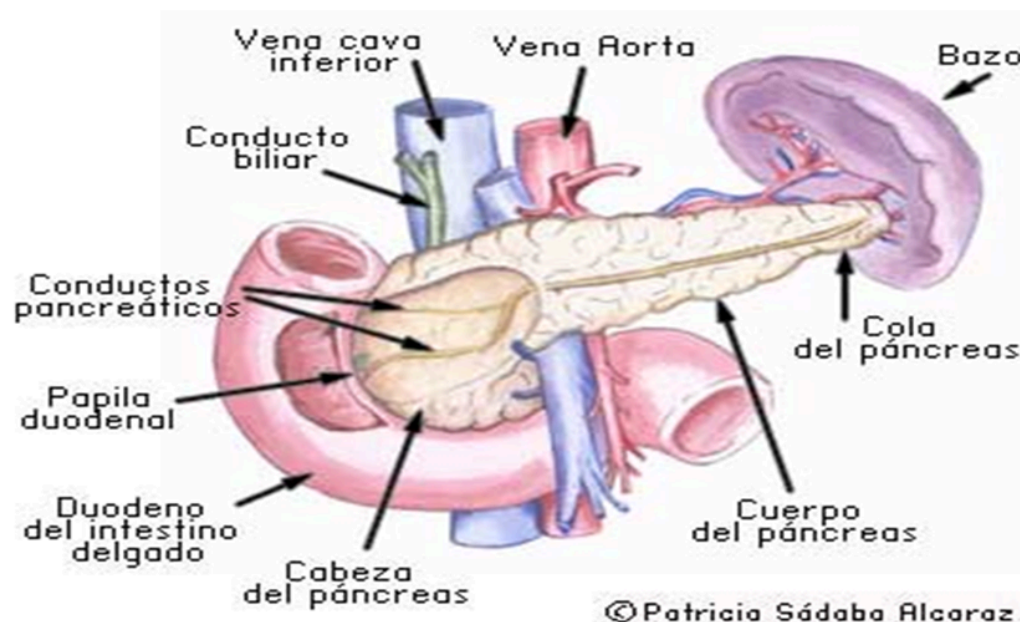
Durante mis prácticas en el laboratorio, tuve la oportunidad de seguir el caso de una paciente con cáncer en cola de páncreas. A lo largo de ese período pude presenciar su inicio de síntomas, diagnóstico y evolución, hasta llegar al tratamiento de quimioterapia con el objetivo de reducir el tamaño del tumor para una posible cirugía.

Se trata de una paciente de 73 años de edad que acude a consulta por pérdida de peso progresiva con aumento de la frecuencia de defecación y diarrea. No presenta náuseas ni vómitos. Solo refiere que es fumadora de 20 cigarrillos diarios desde los 25 años.

MARCO TEÓRICO:

El *cáncer de páncreas* es una neoplasia maligna de alta agresividad que puede originarse en cualquiera de las tres regiones anatómicas del órgano: la cabeza, el cuerpo o la cola.

Los tumores ubicados en la cabeza, región adyacente al duodeno, constituyen la presentación más frecuente y suelen manifestarse con ictericia, dolor en la parte superior del



abdomen, y pérdida de peso. Las neoplasias desarrolladas en el cuerpo pancreático suelen producir dolor abdominal, adelgazamiento progresivo y signos derivados de la invasión de estructuras cercanas.

El cáncer en cola de páncreas a menudo se presentan en estadios avanzados y tienen un peor pronóstico. Esto se debe a que la cola del páncreas se encuentra en la parte posterior del órgano, por lo que los tumores no presionan el conducto biliar hasta que están muy desarrollados. Por ello, el diagnóstico temprano es más difícil y cuando se detectan, a menudo ya se han diseminado a otros órganos. Es común que la metástasis ocurra primero al hígado, lo que puede causar ictericia.

Los principales factores de riesgo asociados son: Tabaquismo, Obesidad y sedentarismo, Diabetes mellitus (especialmente si aparece de forma repentina en la edad adulta), Pancreatitis crónica (inflamación crónica del páncreas), Consumo excesivo de alcohol, Predisposición genética/herencia (Entre un 5 y 10% de los casos tienen un componente hereditario, con antecedentes familiares de cáncer de páncreas u otros síndromes genéticos asociados).

El laboratorio bioquímico desempeña un papel fundamental a través de la evaluación de marcadores tumorales, el apoyo al diagnóstico diferencial y el monitoreo del estado clínico del paciente. Entre los análisis más relevantes se encuentra la determinación de **CA 19-9**, marcador frecuentemente elevado en tumores pancreáticos y útil para valorar la carga tumoral, la respuesta al tratamiento y la detección de recurrencias. Asimismo, los estudios de **función hepática** —incluyendo bilirrubina, fosfatasa alcalina y GGT— permiten identificar obstrucción biliar secundaria a tumores de la cabeza pancreática. La evaluación de parámetros metabólicos como glucemia y hemoglobina glicosilada es importante debido a la asociación del cáncer de páncreas con la aparición de diabetes de reciente comienzo. Además, el laboratorio contribuye al seguimiento integral del paciente mediante la monitorización de **función renal, electrolitos, estado nutricional y marcadores de inflamación**, factores esenciales para la planificación terapéutica, la valoración de toxicidad asociada a la quimioterapia y la toma de decisiones clínicas durante todo el curso de la enfermedad.

RESULTADOS:

Antecedentes de un laboratorio del 14 de agosto sin relevancia.

	Valor de referencia	14 de agosto
GLOBULOS BLANCOS	4000 - 10.000 /mm3	6.700/mm3
GLOBULOS ROJOS	3900 - 5100millon /mm3	4,39 millón/mm3
HEMOGLOBINA	11,6 - 15,0 gr/dl	13,4 gr/dl
HEMATOCRITO	35,0 - 45,0	41,3%
• Formula leucocitaria: • NEUTROFILOS SEGMENTADOS • EOSINOFILOS • BASOFILOS • LINFOCITOS • MONOCITOS		59,0% 3,0% 0% 30,0% 8,0%
• INDICES HEMATIMETRICOS: • VCM • HCM • CHCM • SERIE ROJA	• 80 - 100 fl • 27 - 33 pg • 30- 36 gr/dl	94 fl 31 pg 32 gr/dl NORMAL
GLUCEMIA	70 - 110 mg/dl	82mg/dl
UREMIA	15 -45 mg / dl	39 mg/dl
CREATININEMIA	Adultos: 1,10 mg /dl Infantes: 0,20 mg/ dl	1,07 mg/dl
GOT	hasta 32 U/L	19 U/L
GPT	hasta 31 U/L	20 U/L
FAL	hasta 270 U/L	146 U/L
Brr Total Brr Directa Brr Indirecta	Brr total: Menor a 1,20 mg/dL Brr directa: Menor a 0,20 mg/dL Brr indirecta: Menor a 1,00 mg/dL	Brr total: 1,00 mg/dL Brr directa: 0,13 mg/dL Brr indirecta: 0,87 mg/dL
GGT	7 a 32 U/L	22 U/L

El 13 de octubre la paciente refiere episodios de diarrea por lo que le solicitan leucocitos en materia fecal, a fin de descartar un proceso inflamatorio o infeccioso en el en tracto intestinal, dando como resultado negativo.

Resultado: Se observan 1-2 leucocitos por campo de 100x.

El 21 de octubre, con la misma sintomatología se realiza un laboratorio más específico:

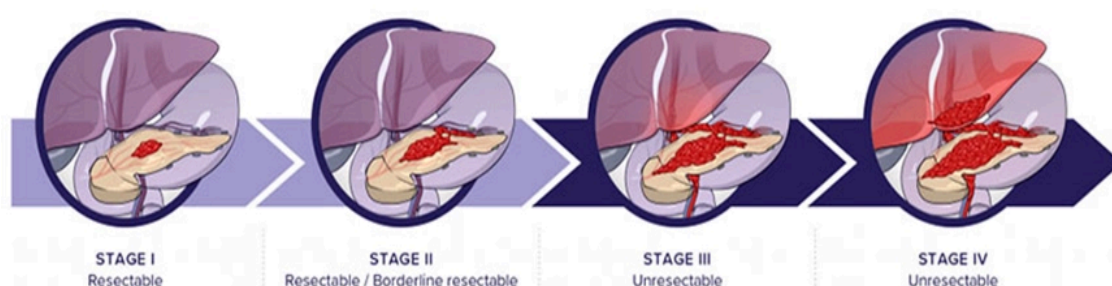
	Valor de referencia	21 de octubre
GLOBULOS BLANCOS	4000 - 10.000 /mm ³	6.300 /mm ³
GLOBULOS ROJOS	3900 - 5100millon /mm ³	4,28 millón/mm ³
HEMOGLOBINA	11,6 - 15,0 gr/dl	13,3 g/dl
HEMATOCRITO	35,0 - 45,0	40,1%
• Formula leucocitaria: • NEUTROFILOS SEGMENTADOS • EOSINOFILOS • BASOFILOS • LINFOCITOS • MONOCITOS		59,0% 3,0% 0% 31,0% 7,0%
• INDICES HEMATIMETRICOS: • VCM • HCM • CHCM • SERIE ROJA	• 80 - 100 fl • 27 - 33 pg • 30 - 36 gr/dl	94 fl 31 pg 33 gr/dl NORMAL
GLUCEMIA	70 - 110 mg/dl	84 mg/dl
UREMIA	15 -45 mg / dl	25 mg/dl
GOT	hasta 32 U/L	15 U/L
GPT	hasta 31 U/L	19 U/L
FAL	hasta 270 U/L	125 U/L
Brr Total Brr Directa Brr Indirecta	Brr total: Menor a 1,20 mg/dL Brr directa: Menor a 0,20 mg/dL Brr indirecta: Menor a 1,00 mg/dL	Brr total: 0,63 mg/dL Brr directa: 0,12 mg/dL Brr indirecta: 0,51 mg/dL
AMILASEMIA	hasta 15 U/L	465 U/L
CA 19-9	hasta 37 UI/mL	145,8 UI/ml

Posterior a estos resultados se realizan pruebas de imágenes, una tomografía computarizada (TC) y ecografías endoscópicas. Encontrándose una masa tumoral en la zona de la cola del páncreas.

Se realiza otro laboratorio en simultaneo con estos estudios, el 29 de octubre arrojando los siguientes resultados:

	Valor de referencia	29 de octubre
FAL	hasta 270 U/L	172 U/L
AMILASEMIA	hasta 15 U/L	479 U/L
CEA	No fumadores: Hasta 3,00 ng/mL Fumadores: Hasta 5,00 ng/mL	2,40 ng/mL

Actualmente la paciente se encuentra con tratamiento de quimioterapia para tratar de reducir el tumor de un estadio III a un estadio II y así facilitar la resección quirúrgica en caso de ser posible.



Etapla II (Grado II): La opción es la cirugía si el tumor es resecable, seguida de quimioterapia y, en algunos casos, radioterapia. Si el tumor no es resecable se puede optar por quimioterapia paliativa para controlar síntomas y prolongar la vida, y en algunos casos, radioterapia para reducir el tamaño del tumor.

Etapla III (Grado III): La cirugía suele no ser posible en esta etapa debido a la invasión a vasos sanguíneos o ganglios cercanos. Las opciones son quimioterapia combinada con radioterapia para controlar el crecimiento del tumor y aliviar síntomas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES:

Los primeros estudios de laboratorio realizados el **14 de agosto** no mostraron alteraciones relevantes, con valores dentro de parámetros normales para hemograma, glicemia, función renal y perfil hepático. Esto sugiere que, en esa etapa, no existían manifestaciones bioquímicas que permitieran sospechar de la patología.

El **13 de octubre**, ante la aparición de episodios de diarrea, se solicitó la evaluación de leucocitos en materia fecal con el fin de descartar un proceso infeccioso o inflamatorio

intestinal. El resultado fue negativo, con la presencia de solo **1–2 leucocitos por campo**, hallazgo compatible con una diarrea no inflamatoria y con baja probabilidad de etiología bacteriana invasiva.

Sin embargo, con la persistencia de la sintomatología, un nuevo control analítico el **21 de octubre** reveló datos de importancia clínica: si bien el hemograma y la mayoría de los parámetros hepáticos se encontraban dentro de valores normales, se observaron **dos resultados llamativos**:

1. **Amilasemia marcadamente elevada de 465 U/L (VR < 15 U/L)**

Este valor sugiere un proceso que afecta al páncreas o sus conductos, dado que la amilasa es un marcador sensible, aunque no específico, de daño pancreático.

2. **Aumento significativo del marcador tumoral CA 19-9 a 145,8 UI/mL (VR < 37 UI/mL)**

Si bien este marcador puede elevarse en patologías benignas (pancreatitis, procesos obstructivos), su incremento notable obliga a descartar enfermedad neoplásica pancreática o biliar.

Estos hallazgos justificaron la solicitud de estudios por imágenes de mayor sensibilidad, incluyendo tomografía computarizada (TC) y ecografía endoscópica.

Ambos métodos confirmaron la presencia de una **masa tumoral en la cola del páncreas**, correlacionándose con la elevación de la amilasa y del CA 19-9.

Posteriormente, el **29 de octubre**, un nuevo laboratorio mostró persistencia de la **hiperamilasemia (479 U/L)**, mientras que el marcador **CEA permaneció dentro de los valores normales**, dato compatible con tumores pancreáticos que tienden a elevar CA 19-9, pero no necesariamente CEA. La fosfatasa alcalina se mantuvo dentro del rango normal, lo cual es esperable en tumores de la cola del páncreas que no suelen generar obstrucción biliar temprana.

El conjunto de la evolución clínica, la elevación de marcadores bioquímicos específicos y la confirmación imagenológica permite establecer un cuadro compatible con **neoplasia pancreática localizada en la cola del páncreas**.

Actualmente, la paciente ha iniciado tratamiento con **quimioterapia neoadyuvante**, cuyo objetivo principal es reducir el tamaño tumoral y aumentar la posibilidad de una resección quirúrgica completa, que continúa siendo el tratamiento de elección cuando es técnicamente factible.

PERSPECTIVAS:

La evolución clínica y los estudios complementarios permitieron identificar de manera progresiva una patología pancreática inicialmente no evidente en los análisis básicos. A partir de síntomas inespecíficos como diarrea y análisis iniciales normales, la detección de **hiperamilasemia** y la **elevación significativa del CA 19-9** orientaron hacia un compromiso pancreático. Los estudios de imagen confirmaron la presencia de una **masa tumoral en la cola del páncreas**, consolidando el diagnóstico.

El abordaje actual mediante **quimioterapia neoadyuvante** constituye una estrategia adecuada para disminuir el tamaño tumoral y posibilitar una eventual resección quirúrgica, que representa la mejor opción terapéutica en términos de supervivencia a largo plazo. Este caso destaca la relevancia del laboratorio clínico como herramienta fundamental para orientar el diagnóstico de patología pancreática, especialmente en contextos donde los síntomas iniciales son inespecíficos. Si bien los estudios finales permitieron llegar a un diagnóstico adecuado y adoptar una estrategia terapéutica acorde.

La elevación marcada de amilasa y CA 19-9 constituyó el punto diagnóstico clave, que, correctamente interpretado, permitió la realización de estudios de imagen confirmatorios. La integración oportuna y completa de los hallazgos bioquímicos representa un aspecto esencial para optimizar la detección de neoplasias pancreáticas, especialmente en localizaciones como la cola del páncreas, donde los síntomas tardan en manifestarse y el diagnóstico suele retrasarse. Así destaca la importancia de la evaluación integral y de la correlación entre clínica, laboratorio y diagnóstico por imágenes, especialmente en patologías que suelen cursar con síntomas iniciales escasos y poco específicos.

Cabe destacar la importancia de protocolos diagnósticos sensibles, que incluyan la solicitud temprana de marcadores pancreáticos y tumorales ante la persistencia de síntomas gastrointestinales sin explicación, incluso cuando los estudios básicos resulten normales.

Para continuar la evolución del cuadro se sugiere la correcta adherencia a la quimioterapia, con controles de laboratorio periódicos evaluando la función hepática y renal.

- BIBLIOGRAFÍA:

Berger, A. C., Garcia, M., Hoffman, J. P., Regine, W. F., Abrams, R. A., Safran, H., ... & Small, W. (2008). Postresection CA 19-9 predicts overall survival in patients with pancreatic cancer treated with adjuvant chemoradiation. *Annals of Surgical Oncology*, 15(12), 3432–3438.

Boeck, S., Stieber, P., Holdenrieder, S., Wilkowski, R., & Heinemann, V. (2006). Prognostic and therapeutic relevance of CA 19-9 as a tumor marker in pancreatic cancer. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 6(3), 597–603.

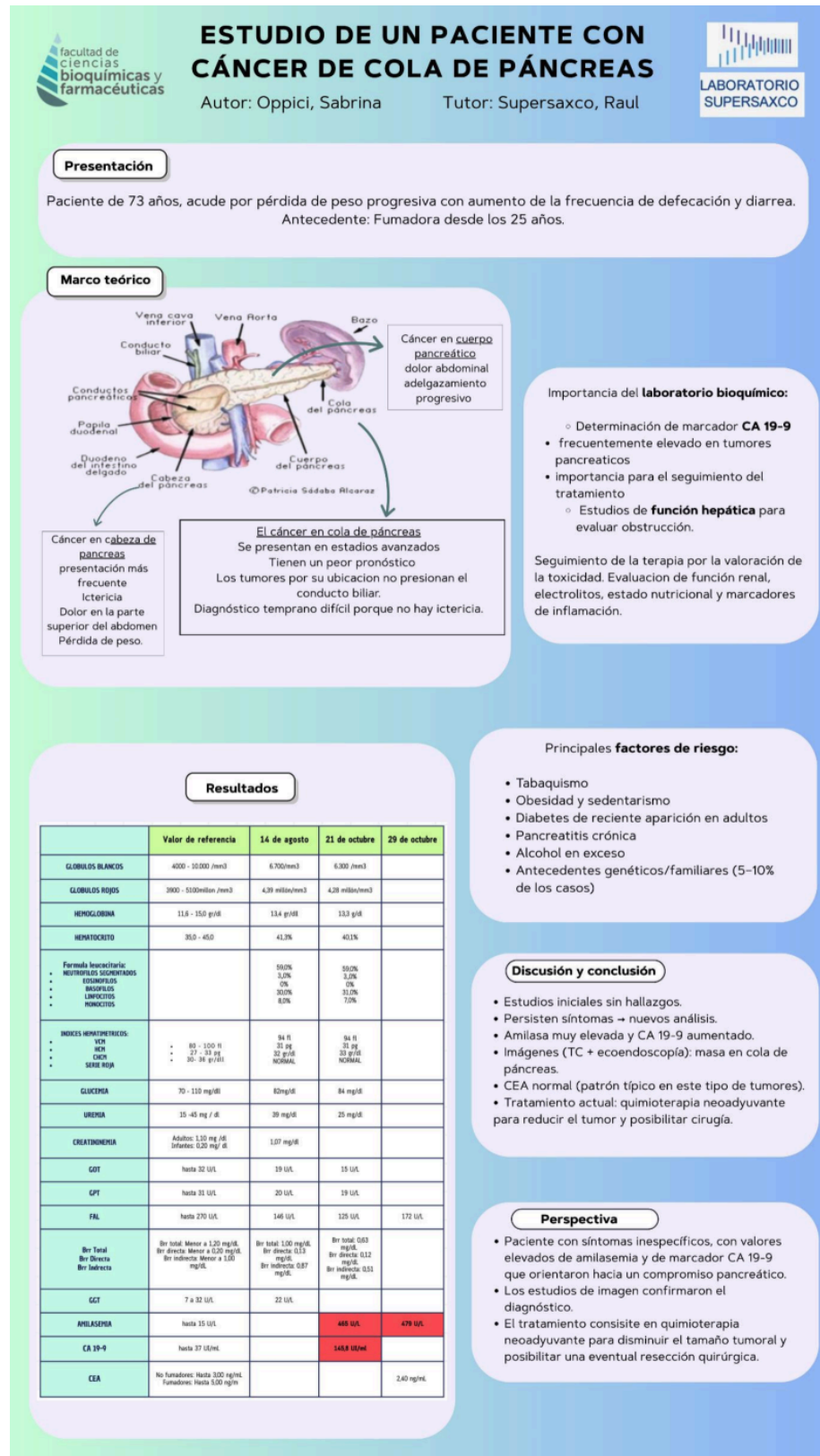
Duffy, M. J. (2001). Carcinoembryonic antigen (CEA) as a marker for colorectal cancer: Is it clinically useful? *Clinical Chemistry*, 47(4), 624–630.
(Incluido por su relevancia en la interpretación del CEA en neoplasias gastrointestinales.)

Hata, T., Motoi, F., Ishida, M., Naitoh, T., Katayose, Y., & Egawa, S. (2015). Diagnostic performance of multidetector CT in detecting pancreatic cancer: Systematic review. *European Radiology*, 25(6), 1528–1537.

Kim, H. J., Kim, M. H., Myung, S. J., Kim, Y. S., Lee, S. K., & Seo, D. W. (2000). A prospective evaluation of CA 19-9 in the early diagnosis of pancreatic cancer. *Hepato-Gastroenterology*, 47(32), 493–497.

National Comprehensive Cancer Network. (2023). *NCCN Guidelines: Pancreatic Adenocarcinoma*. NCCN.org. (Marcadores tumorales y algoritmos diagnósticos.)

Tempero, M. A., et al. (2019). Pancreatic adenocarcinoma, version 1.2019. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 17(3), 202–210.
(Incluye recomendaciones sobre CA 19-9, CEA y diagnóstico radiológico.)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE
ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA 2025

Paternidad tardía

Autora

- Ramirez Iglesias Aldana

Institución de rotación

- Institución: Laboratorio de Andrología, Laboratorio de Medicina Reproductiva, Unidad de Reproducción Humana Medicamente Asistida, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas.

Tutora académica

- Dra. María José Munuce

Tutora profesional

- Bioq. Cecilia Paparella

Consulta en estadística

- Lic. Aylén Ávila

PRESENTACIÓN

El presente estudio tiene como finalidad evaluar el impacto de la edad paterna avanzada en los parámetros de calidad espermática dentro de una población de hombres infértiles que se atienden en la Unidad de Reproducción Médicamente Asistida (URHMA) del Hospital Centenario durante el periodo comprendido entre enero de 2019 y agosto de 2025.

La justificación de esta investigación radica en que la fertilidad masculina y la calidad del semen decrecen con el avance de la edad. Esta disminución no solo compromete la tasa de concepción y el desarrollo embrionario, sino que también incrementan los riesgos de malformaciones congénitas, abortos espontáneos y enfermedades neurocognitivas en la descendencia.

MARCO TEORICO

La tendencia actual hacia la paternidad tardía es un fenómeno complejo, impulsado por factores socioeconómicos y culturales como la postergación del matrimonio, la mejora financiera, la priorización de la formación académica y profesional, el aumento de la esperanza de vida y la accesibilidad a métodos anticonceptivos. Cabe añadir la influencia de una mayor tasa de divorcios y segundos matrimonios que ha favorecido a que los hombres tengan hijos a edades más avanzadas, esto se refiere a 40 años o más al momento de la concepción.

Con el paso de los años en el varón se observan cambios a nivel endocrino denominado hipogonadismo hipergonadotrópico (también conocido como insuficiencia testicular primaria) que ocurre cuando los testículos no funcionan correctamente. A pesar de que la glándula pituitaria (en el cerebro) envía señales hormonales intensas (altos niveles de LH y FSH) para estimularlos, los testículos son incapaces de producir suficiente testosterona y sostener la producción de espermatozoides. Esta deficiencia hormonal provoca síntomas como alteraciones del estado de ánimo y del humor, disminución del deseo sexual (libido), problemas de erección, pérdida de masa muscular, entre otros.

Con el aumento de la edad, se produce una acumulación de daños provocados por factores externos como infecciones, tabaquismo, consumo de alcohol y estupefacientes. Todos estos factores contribuyen a comprometer la integridad genética del espermatozoide. Más allá de los hábitos modificables (como el consumo de alcohol, tabaco y estupefacientes), diversos estudios demuestran que la edad paterna avanzada incrementa las tasas de aneuploidía (asociada con la detención de la espermatogénesis) y de aberraciones cromosómicas en espermatozoides y embriones.

Específicamente, se han identificado alteraciones en

- Cromosoma 9: Asociado con retraso en el desarrollo, discapacidad intelectual, malformaciones faciales y cardíacas, y problemas genitourinarios.
- Cromosoma 21: Resultando en el síndrome de Down.
- Cromosoma 22: Causando defectos cardíacos, paladar hendido, y un mayor riesgo de infertilidad o pérdida del embarazo.

Entre las condiciones genéticas resultantes de errores puntuales en el ADN, se encuentran la acondroplasia y el síndrome de Apert. Las malformaciones congénitas incluyen el síndrome de Marfan y la neurofibromatosis. La edad paterna avanzada también se correlaciona con una mayor prevalencia de esquizofrenia, trastorno del espectro autista, convulsiones y discapacidad intelectual en la descendencia.

Según varios estudios publicados, se ha observado que el 80% de los hombres con infertilidad presentan niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el semen. Los niveles fisiológicos normales de ROS son, de hecho, necesarios para funciones esenciales del esperma, como la maduración, la hiperactivación, la quimiotaxis, la unión a la zona pelúcida, la reacción acrosómica y la fusión esperma-oocito.

Dentro de condiciones fisiológicas normales, los antioxidantes (Vitamina C y E, Se, Zn, etc.) ayudan a mantener un bajo nivel de estrés oxidativo en el semen, permitiendo así los procesos normales de señalización celular y función espermática, y evitando el daño celular inducido por un exceso de ROS.

Los principales productores de ROS en el semen son los leucocitos y los espermatozoides inmaduros. Fallas en el proceso de formación del esperma, como anomalías en la unión cabeza-cola, desarrollo incompleto del acrosoma o alteraciones del citoesqueleto espermático, pueden llevar a la creación de ROS y a una morfología espermática anormal. Además, la edad paterna avanzada se asocia directamente con un aumento de ROS, un agotamiento de las defensas antioxidantes y una menor capacidad fecundante.

Las membranas espermáticas son particularmente vulnerables, ya que contienen una alta concentración de lípidos poliinsaturados, lo que las hace sensibles a los ROS y al daño oxidativo. La peroxidación lipídica puede resultar en la pérdida de fluidez e integridad de la membrana, llevando a una mayor permeabilidad. Esto, a su vez, puede causar una motilidad deteriorada, morfología anormal, reducción de la fusión esperma-oocito, daño en el ADN, reducción de la reacción acrosómica e incluso la muerte celular espermática.

El daño al ADN espermático en varones de edad avanzada, resultante de un exceso de ROS puede manifestarse clínicamente con una disminución de la capacidad de fertilización, desarrollo embrionario deficiente, pérdida del embarazo y potencialmente defectos de nacimiento.

Para evaluar el potencial fértil masculino, el espermograma es el primer paso. Su correcta interpretación, siempre de la mano de un especialista y con los estudios complementarios necesarios (determinaciones hormonales, ecografías), es crucial. Para aumentar las probabilidades de éxito, se recomienda que la evaluación sea integral y se realice en pareja. Los resultados, aunque puedan generar incertidumbre, son el punto de partida para trazar un plan. Afortunadamente, hay múltiples estrategias disponibles, desde modificaciones en el estilo de vida hasta tratamientos de fertilidad para acompañar a las parejas en su camino hacia la paternidad.

OBJETIVO: evaluar el impacto de la edad paterna avanzada en los parámetros de calidad

espermática dentro de una población de hombres infértiles que realizaron estudios seminales en la URHMA durante el periodo comprendido entre enero de 2019 y agosto de 2025.

METODOLOGÍA

Para este estudio, se analizó una base de datos de 744 varones (edad 17-61 años) que acudieron al Laboratorio de Andrología de la URHMA con problemas de infertilidad de pareja de edad promedio 34.8 años. Durante el ingreso se les realizó un interrogatorio sobre hábitos, ocupación y motivo de consulta.

El análisis del líquido seminal requirió para su recolección en un recipiente estéril con una abstinencia sexual absoluta de 2 a 5 días. La muestra se procesó dentro de la hora y se mantuvo a unos 37°C, ya que los espermatozoides necesitan esa temperatura para sobrevivir y moverse correctamente. Se evaluaron parámetros macroscópicos como volumen, pH, color, licuefacción, viscosidad y aglutinación, así como parámetros microscópicos como concentración, movilidad y morfología espermática. El análisis microscópico se llevó a cabo mediante el Sistema Computarizado de Análisis Seminal (CASA), de acuerdo con las normativas de la 5ª y 6ª edición (2010 y 2021) de la OMS. El sistema CASA, que utiliza videomicrografía y análisis digital de imagen, permitió un registro preciso de la trayectoria cinética de los espermatozoides en movimiento. Esta metodología avanzada aseguró la estandarización y optimización de los resultados, al proporcionar un perfil cinético completo de cada muestra

Se utilizó el Test de Azul de anilina que tiñe selectivamente los espermatozoides con cromatina inmadura (que retienen histonas) de azul, mientras que los espermatozoides con cromatina madura permanecen incoloros, permitiendo evaluar así la integridad y madurez del empaquetamiento del ADN espermático.

Análisis estadístico: Se utilizó un árbol de regresión para cada variable continua, con edad como predictor. El árbol busca automáticamente valores de corte que dividan los datos en dos o más grupos con diferencias máximas en la variable dependiente. A partir del resultado del árbol de regresión, la población se dividió en pacientes <40 años y > 40 años durante el periodo comprendido entre enero de 2019 y agosto de 2025. Los datos se expresan como media y SD o mediana y rango intercuartil. Se usaron los test de Fisher y Wilcoxon para variables no paramétricas, con un programa R/Rstudio (versión 4.4.3, 2025-02-28). Un $p < 0.05$ fue considerado significativo.

RESULTADOS

El primer punto de división del árbol se interpretó como el corte óptimo de edad, ya que representa el umbral donde la variable cambia más significativamente. Se encontró una edad óptima de 41,5 años como corte para las variables % Móviles Progresivos y % Normal, no así para el resto de las variables. Es por esto que se dividió la base de datos entre pacientes <40 años y > 40 años. (Tabla n°1)

Tabla n°1

Variable	Edad de corte
Vol (ml)	-
% MP	41.5
CC (Millón/ml)	-
% Normal	41.5
% Muertos	-

La población estudiada, formada por 744 pacientes, procedía mayoritariamente de la ciudad de Rosario 53%. El 45% restante residía en otras localidades de la provincia de Santa Fe, mientras que un 2% provenía de la provincia de Buenos Aires.

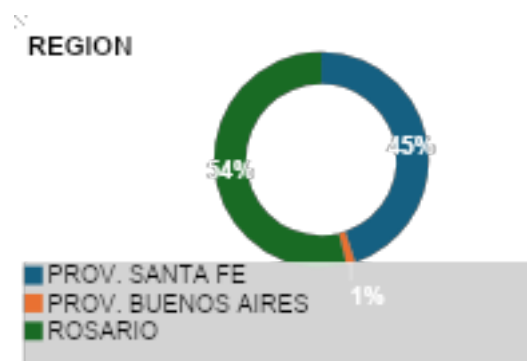


Figura 2



Figura 1

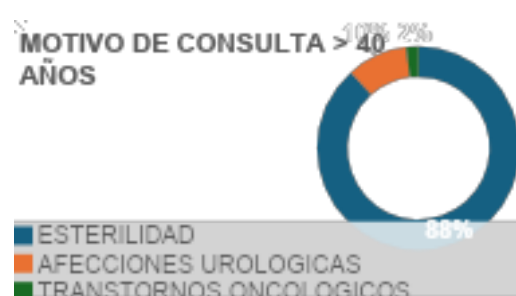
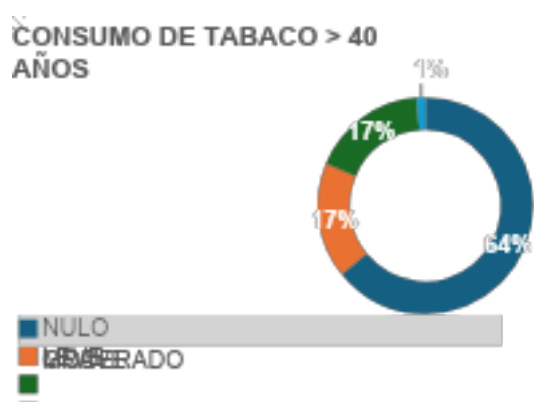


Figura 3



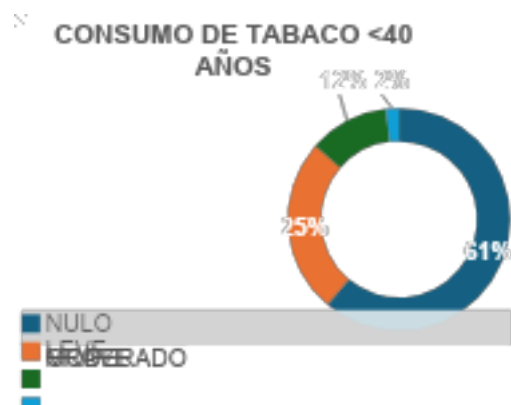


Figura 4

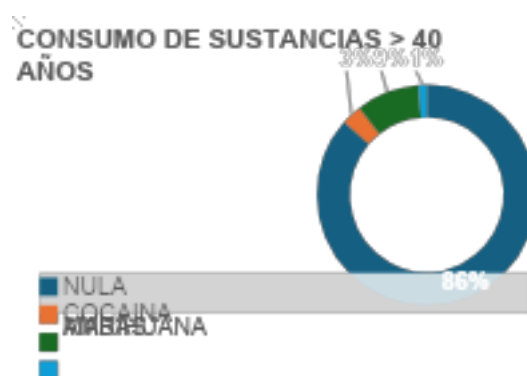


Figura 5

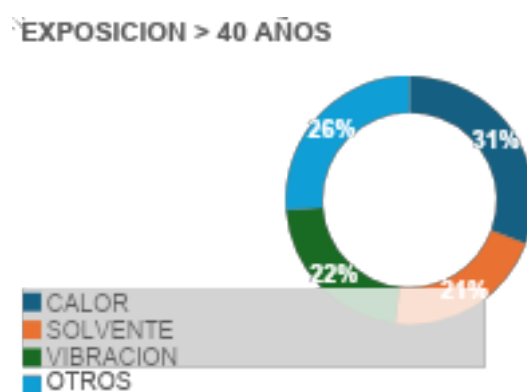
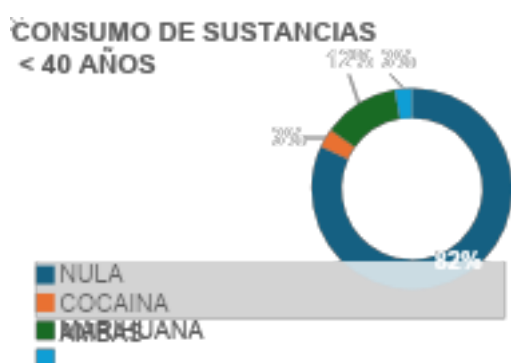


Tabla n°2

Grupo etario	Pacientes	Células grandes			
		Abundantes	Regular	Escasas	Aisladas
> 40 años	191	12	16	20	47
< 40 años	553	43	79	87	136
p value (Test de Fisher)	-	0.3205			

En cuanto al análisis de las variables seminales, no se observan diferencias en la presencia de células de la progenie en ambos grupos. (Tabla n°2)

Tabla n°3

Grupo etario	Volumen		% Móviles progresivos		Concentración (M/ml)		% Normal		% Muertos		% AA	
	Mediana (SD)	Mediana (RIC)	Mediana (SD)	Mediana (RIC)	Mediana (SD)	Mediana (RIC)	Mediana (SD)	Mediana (RIC)	Mediana (SD)	Mediana (RIC)	Mediana (SD)	Mediana (RIC)
> 40 años N=191	2.7 (1.45)	2.5 (1.8)	65.8 (26.9)	74 (37.5)	98.8 (63.1)	88 (92)	5.3 (2.4)	5 (3)	9.0 (8.1)	8 (7)	71.1 (16.4)	73 (23)
< 40 años N=553	2.8 (1.45)	2.5 (1.5)	71.4 (24.9)	79 (33.0)	107.5 (60.6)	110 (94)	5.8 (2.5)	6 (3)	8.1 (7.8)	6 (7)	73.8 (16.6)	78 (25)
p	0.6353		0.0086**		0.1014		0.020*		0.1497		0.1103	

SD: Desvío estándar; RIC: Rango Intercuartílico

Del total de datos analizados el 75% resultó varones <40 años mientras el 25 % restante varones >40 años.

Cuando analizamos el total de variables seminales en ambos grupos de pacientes, se observa una diferencia significativa p (<0.05) entre grupos para las variables % Motiles progresivos y % Normal. (Tabla n°3)

DISCUSIÓN:

El impacto del avance de la edad masculina en la función reproductiva sigue siendo objeto de debate. Nuestro estudio, en relación con la literatura existente, buscó explicar esta cuestión, centrándose en los parámetros seminales.

Los resultados del presente trabajo sugieren que 40 años sería la edad bisagra para dividir nuestra población y que la edad avanzada estaría asociada con un descenso significativo en la motilidad espermática y en el porcentaje de espermatozoides con morfología normal. Sin embargo, no se observó ningún efecto sobre el recuento o concentración espermática.

Nuestros resultados concuerdan con los hallazgos de un estudio que incluyó a 2,612 hombres (16-56 años). En dicha investigación, los autores reportaron de manera similar que la motilidad y la morfología normal disminuyen con la edad, mientras que la concentración espermática no presenta cambios significativos. Esta evidencia refuerza la hipótesis de que la edad tiene un impacto directo en parámetros seminales específicos, independientemente de la tendencia general de empeoramiento de la calidad seminal a nivel mundial. Los efectos adversos de la edad en la calidad del semen, particularmente en la motilidad y morfología descritos en nuestros análisis de regresión, podrían explicarse por cambios fisiológicos:

Cambios testiculares: A medida que avanza la edad, el parénquima testicular sufre cambios relacionados con el envejecimiento que afectan tanto al compartimento intersticial (donde están las células de Leydig que producen testosterona) como al germinal (responsable de producir espermatozoides).

Estrés oxidativo y daño del ADN: Después de los 40 años, el aumento de ROS, generadas en su mayoría por espermatozoides defectuosos o la presencia de leucocitos, se correlaciona negativamente con la motilidad espermática. Los espermatozoides humanos son especialmente vulnerables al estrés oxidativo debido a la escasez de enzimas antioxidantes en su citoplasma, lo que puede llevar a mutaciones en el ADN y baja integridad genómica.

Una crítica común a los estudios que evalúan el deterioro de la calidad del semen con la edad es que la calidad general también ha disminuido globalmente con el tiempo. Sin embargo, este fenómeno generalizado afecta principalmente a la concentración espermática, parámetro que en nuestro no resultó afectado por la edad individual.

Cabe destacar que la disminución de testosterona relacionada con la edad, que influye en un bajo volumen seminal, no se evidenció en nuestro trabajo (edad media de la muestra: 34.8 años; rango: 17-61 años).

PERSPECTIVAS:

Una limitación relevante sobre este estudio es que los parámetros seminales están sujetos a una gran variabilidad espontánea intraindividual. Por esta razón, para futuros estudios, los análisis deberían idealmente incluir evaluaciones seminales repetidas para cada sujeto a fin de obtener una medición más robusta.

Asimismo, en el presente estudio no se evaluó la integridad genómica (fragmentación del ADN) ni el estrés oxidativo. Dichos análisis podrían haber proporcionado información valiosa sobre los mecanismos biológicos del envejecimiento masculino.

En conclusión, el avance de la edad masculina se asocia con una disminución en la proporción de espermatozoides móviles y morfológicamente normales, independientemente de una serie de factores clínicos y con mayor evidencia a partir de los 40 años. Aunque los mecanismos exactos de estas asociaciones aún no se han aclarado del todo, el estrés oxidativo, que aumenta progresivamente con la edad, puede desempeñar un papel clave.

Esta evidencia tiene implicaciones clínicas importantes: los profesionales de la salud deben ser conscientes de que el empeoramiento de la calidad seminal con la edad paterna avanzada puede afectar la capacidad del hombre para lograr la concepción, lo que da lugar a

un debilitamiento general de la posibilidad de concebir de la pareja.

Basado en estos hallazgos, se pueden sugerir recomendaciones prácticas. Entre ellas se encuentran considerar la congelación de espermatozoides (criopreservación) si el individuo decide posponer la paternidad. Además, se sugiere el uso de estrategias farmacológicas y modificaciones en el estilo de vida (como evitar el consumo de alcohol y estupefacientes) como parte integral del estudio y tratamiento de la infertilidad en hombres mayores de 40 años.

BIBLIOGRAFÍA

Manual de laboratorio de la OMS para el examen y procesamiento del semen humano. 5ta y 6ta edición

<https://www.santafe.gob.ar/noticias/noticia/237976/>

https://www.cdrossi.com/estudios-medicos/estudios/laboratorio_8/espermograma-completo_679.html

<https://www.reproduccionasistida.org/seminograma/>

<https://www.reproduccionasistida.org/faqs/cual-es-la-composicion-del-semen/>

<https://www.fucimed.org/index.php/obras/compra-de-un-sistema-de-recuento-espermatico>

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6263229/>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568163714001226?via%3Dihub>

<https://gravida.com/blog/parametros-macroscopicos-de-un-seminograma/>

<https://invitro.com.ar/que-son-los-metodos-de-seleccion-espermatologica/>

<https://www.reproduccionasistida.org/capacitacion-espermatologica/capacitacion-gradientes-de-actividad/>

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4814952/>

<https://northwayclinic.co.uk/blog/the-effects-of-alcohol-drugs-and-smoking-on-male-fertility/>

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00404-024-07448-8>

<https://smallpdf.com/es/traducir-pdf#r=translate>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028214022717>

<https://revista.microbiologos.cr/wp-content/uploads/2023/11/Articulo-2-Introduccion-a-las-Tecnicas-de-Capacitacion-Espermatologica-final.pdf>

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3735149/>

<https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/22077-apert-syndrome>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028219304054>

<https://saem.org.ar/docs/vol44-n1.pdf>



PATERNIDAD TARDIA

Autor: Ramírez Iglesias Aldana

Tutor: Dra. Munuce María José

Agradecimiento: Bioq. Paparella Cecilia y Lic. Avila Aylen

Laboratorio de Medicina Reproductiva, Unidad de Reproducción Humana Medicamente Asistida

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, U.N.R



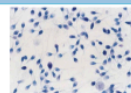
INTRODUCCION

La edad paterna avanzada, convencionalmente establecida a partir de los 40 años en los hombres, implica un deterioro gradual de la calidad seminal y la fertilidad. Esta disminución no solo compromete la capacidad reproductiva y el desarrollo embrionario, sino que además aumenta el riesgo de anomalías congénitas, abortos espontáneos y trastornos neurocognitivos en la descendencia.



↑ Edad de concepción

- Madurez emocional
- Búsqueda de estabilidad financiera y académica
- Accesibilidad de métodos anticonceptivos
- Tasa de divorcios
- Esperanza de vida



↓ Calidad espermática

- Volumen seminal
- Rto de espermatozoides
- Motilidad
- Integridad del ADN
- Capacidad de fertilización



↑ Riesgo de

- Pérdidas de embarazo
- Defectos cardíacos
- Aberraciones cromosómicas
- Síndrome de Marfan
- Esquizofrenia
- Autismo

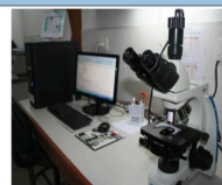
OBJETIVO

Evaluar el impacto de la edad paterna avanzada en los parámetros de calidad espermática dentro de una población de hombres infértiles que realizaron estudios seminales en la URHMA durante el periodo comprendido entre enero de 2019 y agosto de 2025.

METODOLOGIA

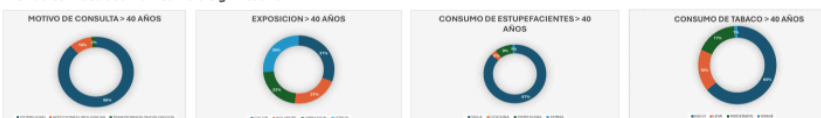
A partir del espermograma, el cual requiere realizarse con una abstinencia sexual absoluta de 2 a 5 días. Se evaluaron los parámetros macroscópicos (volumen, pH, color, licuefacción, viscosidad y aglutinación) y microscópicos (concentración, movilidad y morfología espermática) con platina termostática a 37°C. La evaluación se realizó utilizando el Sistema Computarizado de Análisis Seminal (CASA), siguiendo las normativas de la 5ª y 6ª edición de la OMS (2019, 2021). Adicionalmente empleamos el Test de Azul de Anilina. El mismo tinte de azul los espermatozoides con cromatina inmadura (que retienen histonas), mientras que los maduros permanecen incoloro, permitiendo determinar la integridad y madurez del empaquetamiento del ADN espermático.

Análisis estadístico: Se utilizó un árbol de regresión para cada variable continua, con edad como predictor. El árbol busca automáticamente valores de corte que dividan los datos en dos o más grupos con diferencias máximas en la variable dependiente. Los datos se expresan como media y SD o mediana y rango intercuartil. Se usaron los test de Fisher y Wilcoxon para variables no paramétricas, con un programa R/Retudio (versión 4.4.3, 2025-02-28). Un $p < 0.05$ fue considerado significativo.



RESULTADOS

Un total de 744 pacientes conformaron la muestra del estudio. Al momento de su admisión, estos completaron un cuestionario detallado sobre su motivo de consulta, ocupación y estilo de vida. Las diferencias entre los dos grupos de edad (<40 y >40 años) se evaluaron mediante el test de Wilcoxon. Para el análisis de los datos se utilizó un árbol de regresión para cada variable continua, lo que permitió identificar los 40 años como la edad a partir de la cual las variables mostraban un cambio significativo.



Grupo etario	Pacientes	Abundantes	Regulares	Escasas	Aisladas
> 40 años	191	12	16	20	47
< 40 años	553	43	79	87	136
p value	-	0.3205			

En el análisis microscópico inicial, no se observan diferencias en la presencia de células de la progenie en ambos grupos.

Grupo etario	Volumen		% Motiles progresivos		Concentración (M/ml)		% Normal		% Muertos		% AA	
	Media (SD)	Mediana (RIC)	Media (SD)	Mediana (RIC)	Media (SD)	Mediana (RIC)	Media (SD)	Mediana (RIC)	Media (SD)	Mediana (RIC)	Media (SD)	Mediana (RIC)
> 40 años N=191	2.7 (1.45)	2.5 (1.8)	65.8 (26.9)	74 (37.5)	98.8 (63.1)	88 (92)	5.3 (2.4)	5 (3)	9.0 (8.1)	8 (7)	71.1 (16.4)	73 (23)
< 40 años N=553	2.8 (1.45)	2.5 (1.5)	71.4 (24.9)	79 (33.6)	107.5 (60.6)	110 (94)	5.8 (2.5)	6 (3)	8.1 (7.8)	6 (7)	73.8 (16.6)	78 (25)
p value	0.6353		0.0086**		0.1014		0.020**		0.1497		0.1103	

Se observa una diferencia p (<0.05) entre grupos para las variables % Normal % y Motiles progresivos.

CONCLUSION

Nuestros datos concuerdan con la bibliografía, confirmando que **a partir de los 40 años se produce una disminución de las variables seminales**, el estrés oxidativo que aumenta progresivamente con la edad puede desempeñar un papel clave. Específicamente, en la comparación entre varones menores de 40 y mayores de 40 años, hemos observado un **deterioro en la calidad seminal, evidenciado por una menor motilidad, y una mayor proporción de espermatozoides morfológicamente anormales** reduciendo las posibilidades de fecundar el óvulo y causando infertilidad masculina.

PERSPECTIVA

- El desafío consiste en impulsar una mayor cantidad de campañas de educación sobre buenos hábitos y riesgos de la paternidad a edad avanzada.
- Es necesario destacar el aumento de las probabilidades de aborto y problemas de salud para el niño.
- Se sugiere el análisis de integridad del ADN, uso de estrategias farmacológicas y de estilos de vida antioxidantes para tratar la infertilidad en hombres mayores de 40 años.
- Una solución a considerar es congelar espermatozoides (criopreservación) en caso de decidir posponer la paternidad.

BIBLIOGRAFIA

Manual de laboratorio de la OMS para el examen y procesamiento del semen humano. 5ta y 6ta edición
<https://link.springer.com/article/10.1007/978-0-00-004-024-6-07448-8>

Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Práctica Profesional Obligatoria

Tos que alerta, laboratorio que confirma:
Infección por *Bordetella pertussis* en
lactante

Tutora: Bioq. Maroni, Georgina

Estudiante: Stachiotti, Camila

Efecto: Hospital Provincial de Rosario

Año 2025

PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO

Un paciente masculino de 3 meses de edad concurre a la guardia pediátrica del Hospital Provincial de Rosario el 11/08/2025, por un cuadro caracterizado por tos ruborizante y cianotizante acompañado de rinorrea seromucosa, de dos días de evolución. La madre refirió que estaba bajo tratamiento con claritromicina y un fármaco broncodilatador indicados por su médico pediatra. Además, señaló que el paciente poseía un esquema de vacunación incompleto. Agregó como antecedente de interés una bronquiolitis por virus sincicial respiratorio al mes y medio de vida.

Al examen físico se encontraba rosado, reactivo y afebril, con un moderado estado general, frecuencia respiratoria de 50 rpm con taquipnea, tiraje generalizado, aceptable entrada bilateral de aire y saturación periférica de oxígeno de 90-92% a aire ambiente. En ese momento, presentó un evento de tos por lo que se realizaron medidas de rescate con un fármaco broncodilatador sin respuesta positiva.

Se decide inmediata internación con diagnóstico presuntivo de bronquiolitis obstructiva recurrente, con indicación de cánula nasal para soporte de oxígeno, claritromicina, metilprednisolona y salbutamol. Se solicitaron análisis de laboratorio.

La madrugada del 12/08 el paciente presentó acceso de tos ruborizante y cianotizante, con aspirado de abundantes secreciones mucosas. La mañana del mismo día se agregó dexametasona y nebulización con budesonida, sin embargo presentó nuevamente un episodio de tos cianotizante. Ante sospecha de síndrome coqueluchoide, se solicita la realización del panel respiratorio en muestra de aspirado nasofaríngeo. El laboratorio de bacteriología detectó infección por *Bordetella pertussis* mediante análisis por FilmArray. Se realizó la denuncia epidemiológica obligatoria del caso y se indicó tratamiento familiar.

El 13/08 el servicio intentó, sin éxito, la suspensión del aporte de oxígeno. Al día siguiente, el paciente presentó una disminución en los episodios de tos con respecto al ingreso. Finalmente, el 15/08 el paciente mostró una evolución clínica favorable, sin nuevos episodios de tos, por lo que se otorgó el alta hospitalaria bajo indicaciones de completar el tratamiento antibiótico, pautas de alarma correspondientes y seguimiento ambulatorio con su médico pediatra.

MARCO TEÓRICO

Las infecciones respiratorias agudas son una de las principales causas de mortalidad en niños menores de 5 años. La bronquiolitis (producida principalmente por el virus sincicial respiratorio) es una de las más graves y frecuentes, generando obstrucción de las vías aéreas periféricas. Cuando un niño presenta dos o más episodios en un año, se considera bronquiolitis obstructiva recurrente. En este grupo de infecciones se encuentra la **tos convulsa, tos ferina o coqueluche**, causada por el cocobacilo gram-negativo ***Bordetella pertussis***. La tos convulsa es una enfermedad altamente contagiosa que requiere contacto estrecho ya que se transmite de persona a persona a través de gotas de secreción o aerosoles.

B. pertussis es un patógeno exclusivo del ser humano, una vez que ingresa al organismo se fija al epitelio ciliado del tracto respiratorio mediante adhesinas (fimbrias, pertactina y hemaglutinina filamentosa) prolifera y libera un conjunto de toxinas (toxina pertussis, adenilato ciclasa-hemolisina, citotoxina traqueal, toxina dermonecrótica y lipopolisacárido) que dañan las células ciliadas, reducen el aclaramiento mucociliar y aumentan la producción de mucosidad, lo que desencadena tos paroxística y otros síntomas característicos de la enfermedad.

El período de incubación asintomático puede durar entre 6 a 21 días, siendo lo más frecuente 7 días. Luego la enfermedad se presenta en forma de tres fases clínicas. La primera es una **fase catarral** que dura entre 1 a 2 semanas (más breve en lactantes), donde la sintomatología se asemeja a un resfrío común y representa la fase de mayor contagio. Con una duración de 3 a 6 semanas, le sigue una **fase paroxística** caracterizada por accesos intensos de tos que suelen acompañarse de vómitos y expulsión de un tapón mucoso, siendo poco habitual la presencia de fiebre. Al inspirar bruscamente, el aire atraviesa las vías parcialmente obstruidas y se produce un silbido típico ("gallo") aunque en lactantes puede estar ausente. Adolescentes y adultos pueden presentar como único síntoma una tos prolongada o incluso ser asintomáticos. En lactantes es común observar leucocitosis con linfocitosis relativa y absoluta, siendo esta última la más típica y cuya magnitud se correlaciona con la gravedad, además de trombocitosis que se asocia a peor pronóstico. Cuando la frecuencia y severidad de los paroxismos disminuyen comienza la **fase de convalecencia**, durante la cual la enfermedad ya no es contagiosa. Sin embargo, los lactantes

pueden sobre-infectarse de otros patógenos respiratorios, pudiendo retrasar y complicar la recuperación.

Si bien personas de todas las edades pueden contraer tos convulsa, los menores de 6 meses (especialmente prematuros y/o no inmunizados) son quienes presentan las formas más graves y mortales. En los primeros meses de vida, el niño aún no está protegido por las vacunas y es biológicamente muy vulnerable. Por eso, los cuadros clínicos suelen ser más graves, con más complicaciones y hospitalizaciones. Las complicaciones en este grupo pueden ser: cianosis paroxística, apnea, neumonía, hipertensión pulmonar, hemorragia cerebral y muerte súbita.

El tratamiento de la tos convulsa consiste en la indicación de macrólidos. Éstos reducen la intensidad y la duración del cuadro cuando se administran durante la fase catarral. Sin embargo, no modifican la evolución clínica en la fase paroxística, aunque sí disminuyen la transmisión al interrumpir el contagio después de cinco días de tratamiento. Los contactos estrechos deben recibir profilaxis lo antes posible.

Según los datos recopilados en Argentina hasta octubre del 2025, el total de casos confirmados de tos convulsa triplican los reportados en el 2024, con un total de 6 fallecidos, todos menores de 2 años de edad y sin la vacunación correspondiente. Esto evidencia un actual brote de la enfermedad, fenómeno que se observa aproximadamente cada 3 a 5 años en muchos países. El aumento actual de casos se relaciona principalmente con una disminución sostenida en la vacunación. La inmunización se centra en los primeros meses de vida, con refuerzos a los 15 meses, 5 y 11 años de edad mediante el empleo de vacunas celulares y acelulares. Es obligatorio también en personal de salud en contacto con lactantes y gestantes a partir de la semana 20 del embarazo con el objetivo de otorgar inmunidad al feto hasta que reciba su primera vacuna.

La tos convulsa es un evento de notificación obligatoria a través del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud. Esta medida epidemiológica permite monitorear la circulación de la enfermedad, responder ante brotes y proteger a los grupos más vulnerables, especialmente los lactantes menores de 6 meses. Se considera sospechosa toda infección respiratoria aguda con al menos uno de los siguientes síntomas: cianosis, tos paroxística, apnea, estridor inspiratorio o vómitos luego de toser. Se confirma tos convulsa cuando se demuestra infección por *B. pertussis* mediante el diagnóstico de laboratorio o por nexo epidemiológico.

El **diagnóstico de laboratorio** se realiza por cultivo, técnicas de biología molecular y serología.

Diagnóstico microbiológico: El cultivo es el método de referencia en muestra de aspirado o hisopado nasofaríngeo. Es altamente específico pero posee baja sensibilidad, por lo que sólo es eficiente durante la fase catarral y comienzo de la paroxística, cuando aún hay bacterias viables. *B. pertussis* es fastidioso, por lo para su aislamiento se requiere el medio de cultivo enriquecido agar sólido Regan Lowe, con carbón activado y suplementado con sangre de caballo y cefalexina, precisando incubación en aerobiosis a 37°C por hasta siete días. Las colonias resultantes son pequeñas y con un aspecto de gotitas de mercurio. La cefalexina suprime la gran mayoría de la flora nasofaríngea, aunque algunas especies resistentes pueden sobrevivir y crecer. Es importante el almacenado del medio a 4°C en bolsas cerradas, sin superar las 14 semanas ya que la cefalexina pierde potencia, permitiendo que la flora contaminante crezca más fácilmente. Si la muestra no se siembra de inmediato, o no se transporta en un medio adecuado (Regan Lowe semisólido), las bacterias pierden viabilidad. La vacunación previa y el tratamiento reciente con antimicrobianos también disminuyen el rendimiento del cultivo. En el caso de obtener aislamiento se identifica la bacteria mediante MALDI-TOF para su vigilancia epidemiológica y sensibilidad antimicrobiana.

Diagnóstico serológico: Método específico y sensible, útil para estudios epidemiológicos, de vigilancia y para el diagnóstico en adolescentes y adultos. Se utiliza la técnica ELISA para la detección en suero de anticuerpos específicos frente a antígenos como la toxina pertussis. Se requieren dos muestras obtenidas con 21 días de diferencia, donde la primera se toma en la fase aguda y la otra en la convaleciente. En caso que el paciente esté infectado se evidencia seroconversión. La última dosis de la vacuna debe haber sido aplicada tres años antes (o más) al momento de toma de la muestra, ya que el cambio serológico podría deberse a la vacuna y no a la infección.

Diagnóstico molecular: La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) constituye actualmente la técnica más rápida, eficiente y útil para el diagnóstico de tos convulsa al final de la fase catarral y durante toda la fase paroxística. En niños, la mejor muestra es el aspirado nasofaríngeo, aunque también puede utilizarse el hisopado. La sensibilidad disminuye con la vacunación y con el tiempo de tratamiento con antimicrobianos. Un

ejemplo es el FilmArray, el cual se basa en una técnica de PCR anidada multiplex, con análisis de curvas de fusión, permitiendo la detección cualitativa en tiempo real de *B. pertussis*, con una sensibilidad del 97,1% y una especificidad del 99,3%. El producto amplificado es el promotor del gen de la toxina pertussis. Este instrumento es compatible con un panel respiratorio, disponible en forma de un cartucho descartable, que almacena todos los reactivos necesarios para la detección del patógeno. Requiere una mínima manipulación de la muestra, lo que disminuye considerablemente la posibilidad de contaminación. Incluye un control positivo y un control interno de reacción. Una desventaja de este equipo es que existe el riesgo de obtener resultados falsos positivos debido a una amplificación inespecífica por reactividad cruzada; un ejemplo es la prueba de Rinovirus/Enterovirus la cual puede amplificar secuencias fuera de la diana presentes en cepas de *B. pertussis* cuando hay una alta concentración bacteriana en la muestra.

Existe un conjunto de signos y síntomas indistinguibles de la tos convulsa en los que no se demuestra la presencia de *B. pertussis* denominado **síndrome coqueluchoide**, el cual posee etiologías tanto infecciosas como no infecciosas. Entre las infecciosas se incluyen *Bordetella parapertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma pneumoniae*, rinovirus, metapneumovirus, adenovirus, virus sincicial respiratorio y virus influenza. Entre las no infecciosas están el asma bronquial, aspiración de cuerpos extraños o fibrosis quística. En algunas ocasiones se presentan coinfecciones de varios agentes. Es importante el diagnóstico diferencial entre tos convulsa y síndrome coqueluchoide debido que permite orientar el manejo terapéutico, evaluar la necesidad de profilaxis a contactos estrechos y evaluar la gravedad, especialmente en lactantes donde la infección por *B. pertussis* presenta mayor morbi-mortalidad.

RESULTADOS

Laboratorio

TABLA 1: Resultados del laboratorio

DETERMINACIÓN	RESULTADO	VALOR DE REFERENCIA (para la edad)
Leucocitos (células/mm ³)	13540	6000 - 17500
Hematíes (células/mm ³)	3900000	2700000 - 4900000
Hemoglobina (g/dl)	10.88	9 - 14
Hematocrito (%)	32.61	28 - 42
Vol. corp. medio (fl)	83.70	77- 115
Hb.corp. media (pg)	27.92	26 - 34
Conc. Hgb Corp. Media (g/dl)	33.35	29 - 37
Recuento de plaquetas (células/mm ³)	551000	150000 - 450000
Recuento absoluto (células/mm ³) Neu / Eo / Ba / Linf / Mo	5640 / 10 / 530 / 6600 / 850	1500 - 8500 / 180-530/ 60-180 / 4000-13500/ 300-880
Recuento relativo (%) Neu / Eo / Ba / Linf / Mo	41.34 / 0.09 / 3.91 / 48.40 / 6.26	25 - 48 / 3 / 1 / 66.67 - 77.14 / 5
Eritrosedimentación (mm/hora)	2	1 - 20
Glicemia (mg/dl)	117	54 - 100
Uremia (mg/dl)	18	9 - 34
Creatininemia (mg/dl)	0.33	0.17 - 0.42
Sodio (mEq/L)	139	130 - 143
Potasio (mEq/L)	3.6	3.5 - 5.8
Cloruro (mEq/L)	98.6	97 - 107
Proteína C reactiva (mg/dl)	0.1	< 0.5

FilmArray: Panel respiratorio

Muestra: Aspirado nasofaríngeo

DETECTADO: *Bordetella pertussis*; Rinovirus / Enterovirus

NO DETECTADO: Adenovirus; Coronavirus 229E, HKU1, NL63 y OC43; SARS-CoV-2; Metapneumovirus humano; Influenza A y B; Parainfluenza Virus 1, 2, 3 y 4; Virus Sincicial Respiratorio; *Bordetella parapertussis*; *Chlamydia pneumoniae*; *Mycoplasma pneumoniae*

Cultivo: Agar Regan Lowe

Muestra: Aspirado nasofaríngeo

Dos días posteriores a la recepción de la muestra, se sembró en dos placas del medio agar sólido Regan Lowe. Pasados cinco días de incubación, en ambas placas se observó crecimiento de múltiples colonias bacterianas (Figura 1). Se sospechó que una colonia podría corresponder a *Bordetella pertussis*; sin embargo, su identificación por MALDI-TOF resultó inconclusa.



Fig. 1: Cultivo de colonia en Agar Regan Lowe

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El paciente ingresó a la guardia pediátrica con signos y síntomas compatibles con una infección respiratoria aguda. Por su edad, antecedente clínico de relevancia y ausencia del silbido agudo característico de tos convulsa, inicialmente se sospechó de bronquiolitis obstructiva recurrente. Debido a que durante la internación los eventos de tos paroxística y cianotizante se intensificaron, el servicio planteó diagnóstico probable de síndrome coqueluchoide.

Los análisis de laboratorio no arrojaron información de relevancia, excepto la trombocitosis aunque no es específica de la enfermedad. La continuidad de los síntomas impactó con la solicitud del panel respiratorio por Filmarray al laboratorio de bacteriología, el cual permitió el diagnóstico rápido y definitivo de tos convulsa.

La siembra del aspirado nasofaríngeo no se realizó en el momento de recepción ya que no se disponía del medio específico agar sólido Regan Lowe. La muestra no fue transportada y almacenada en un medio adecuado, lo que pudo comprometer la viabilidad de *B. pertussis*. El paciente se encontraba bajo tratamiento con macrólidos que también contribuyó al fracaso en el aislamiento. Se observó abundante crecimiento de flora bacteriana acompañante, dificultando la visualización de posibles colonias del patógeno. Todos estos factores explican la imposibilidad de aislar la bacteria. Por la edad del paciente el diagnóstico serológico no es recomendable y por ese motivo no lo solicitaron.

Estas variables analíticas resaltan la importancia de contar con técnicas moleculares para el diagnóstico certero, sobre todo en efectores que reciben población pediátrica. Además, es importante destacar que el FilmArray permite detectar múltiples patógenos al mismo tiempo, es rápido y por su configuración presenta menos riesgo de contaminación. La posible reacción cruzada, que sería su limitante, no modificó la conducta terapéutica.

Con la confirmación de la enfermedad, el paciente continuó el tratamiento con antimicrobianos y la familia comenzó la profilaxis ya que eran sus contactos estrechos, lo que es fundamental para interrumpir el contagio.

PERSPECTIVAS

Este caso refleja el rol fundamental del profesional bioquímico en la confirmación de tos convulsa. La confirmación molecular mediante PCR es indispensable para la vigilancia de *B. pertussis*, especialmente en lactantes donde la clínica puede ser inespecífica y representan el grupo más vulnerable debido a los riesgos y complicaciones.

La labor del bioquímico se integra en un trabajo interdisciplinario junto al resto del equipo de salud, esto contribuye a la detección temprana de los casos para evitar la propagación de esta enfermedad altamente contagiosa. Asimismo, el hospital público como institución cumple un rol esencial para la atención, diagnóstico y vigilancia epidemiológica, garantizando un acceso gratuito e igualitario a la salud.

Otro aspecto importante que se destaca, es la disminución de las coberturas de vacunación contra tos convulsa. Esto puede ser por múltiples factores, entre los que se incluyen situaciones de vulnerabilidad socio-económica, desinformación o pérdida de confianza en las vacunas. Para frenar los alarmantes aumentos de casos se podrían tomar medidas como: ofrecer información clara, resaltar la importancia de la vacunación en gestantes y en niños, ampliar centros de vacunación. Desde nuestro lugar, como promotores de la salud, debemos ser criteriosos y responsables con respecto a las denuncias obligatorias ya que estos datos permiten gestionar las políticas de salud necesarias.

Para finalizar, este caso demuestra que el correcto abordaje clínico y diagnóstico por parte del equipo de salud permite orientar y resolver oportunamente todo tipo de patologías ya que se pueden tomar las medidas terapéuticas y preventivas adecuadas que generan menor impacto en la salud del paciente y en los recursos hospitalarios.

BIBLIOGRAFÍA

- *Abordaje integral de las Infecciones Respiratorias Agudas: Guía para el equipo de salud.* (2010). Ministerio de Salud de la Nación.
- *Alerta sobre el aumento de casos de coqueluche (tos convulsa) en la población pediátrica.* (2025). Sociedad Argentina de Pediatría.
- *BioFire® Respiratory Panel 2.1 (RP2.1) – De Novo Instructions for Use.* (2023). Biomérieux.
- Casto, A. M. (2014). Enfermedades bacterianas del aparato respiratorio inferior. En R. Ossio (Ed.), *Bacteriología médica basada en problemas* (2 ed., 152-152). Editorial El Manual Moderno.
- Daniels, H.L. Y Sabella, C. (2018). Bordetella pertussis (Pertussis). *American Academy of pediatrics*. 39 (5), 247-257.
doi: 10.1542/pir.2017-0229.
- *Información sobre coqueluche (tos convulsa o tos ferina).* (2022). Sociedad Argentina de Vacunología y Epidemiología.
- Vega Mendoza, D. L., Dotres Martínez, C., Toraño Peraza, G., Valdés Ramírez, O., y Mondeja Rodríguez, B. A. (2022). Síndrome coqueluchoide y tosferina. *Revista Cubana de Pediatría*, 94(1).
- Ruijs, G. J., Groenendijk, T. M. y Biever, M. (1991). Shelf life of prepared Bordet-Gengou and Regan-Lowe agar plates for isolation of Bordetella pertussis. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 10 (11), 974–978.
<https://doi.org/10.1007/BF02005458>



Tos que alerta, laboratorio que confirma: Infección por *Bordetella pertussis* en lactante



Stachiotti, Camila¹; Sorribas, Aranza²; Reschia, Andreina²; Moncecchi, Laura²; Martínez, M. Carolina²; Palavecino, Andrea²; Maroni, Georgina¹

¹ Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas ² Hospital Provincial de Rosario

INTRODUCCIÓN

Tos convulsa, tos ferina o coqueluche son sinónimos para nombrar una infección respiratoria aguda cuyo agente etiológico es *Bordetella pertussis*, donde los cuadros más graves y letales ocurren en lactantes. Se caracteriza por tres fases clínicas: catarral, **paroxística** (accesos intensos de tos) y de convalecencia. Es una enfermedad de notificación obligatoria y en Argentina hasta octubre del 2025 los casos confirmados triplicaron los reportados en 2024. El **diagnóstico** para confirmar casos sospechosos consiste en cultivo microbiológico, serología y técnicas de biología molecular. Debe realizarse diagnóstico diferencial con otras entidades infecciosas y no infecciosas que producen el denominado síndrome coqueluchoide.

CASO CLÍNICO

Paciente masculino de 3 meses de edad concurrió a guardia por un cuadro de tos ruborizante y cianotizante acompañado de rinorrea seromucosa, de dos días de evolución. Se encontraba bajo tratamiento con claritromicina, poseía esquema de vacunación incompleto y antecedente de bronquiolitis por VSR. Se encontraba reactivo y afebril, frecuencia respiratoria de 50 rpm con taquipnea y saturación de oxígeno de 90%-92%. Se decidió internación con oxigenoterapia y claritromicina. Se solicitaron análisis de laboratorio. Los eventos de tos paroxística y cianotizante se intensificaron, por lo que se planteó diagnóstico probable de síndrome coqueluchoide. Se solicitó realizar el panel respiratorio de FilmArray. Luego de cuatro días, los episodios de tos disminuyeron y por mejoría clínica se otorgó el alta hospitalaria.

RESULTADOS

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

PCR: FilmArray (Panel respiratorio)

Muestra: Aspirado nasofaríngeo

DETECTADO: *Bordetella pertussis*

Rinovirus/Enterovirus

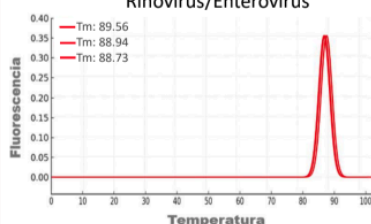


Figura 1: Curva de melting para *B. pertussis*

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Cultivo: Agar sólido Regan Lowe

Muestra: Aspirado nasofaríngeo

Se observa colonia sospechosa de *Bordetella pertussis*.

Identificación por MALDI-TOF: inconclusa.

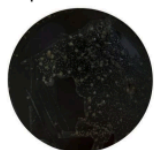


Figura 2 : Cultivo en agar Regan Lowe

CONCLUSIONES

Los análisis de laboratorio no arrojaron información relevante. El aislamiento de *Bordetella pertussis* en el cultivo fracasó debido a la calidad de la muestra, la presencia de flora contaminante y el esquema terapéutico previo del paciente. Esto resalta la importancia de contar con técnicas moleculares para el diagnóstico rápido y certero de tos convulsa en la población vulnerable.

PERSPECTIVAS

Este caso clínico resalta el rol fundamental del profesional bioquímico en la confirmación diagnóstica de tos convulsa, y su participación en el equipo de salud. También se destaca el rol clave del hospital público en la atención y vigilancia epidemiológica. Ante el aumento de casos, es fundamental señalar la importancia en la prevención de tos convulsa mediante inmunización de pacientes pediátricos y gestantes.

Un correcto abordaje clínico y diagnóstico permite identificar el problema a tiempo, aplicar el tratamiento adecuado y disminuir el impacto en la salud del paciente y en los recursos hospitalarios

Cuantificación plasmática de Emicizumab para el monitoreo de pacientes con Hemofilia A con y sin inhibidores

**Trabajo final de las Prácticas Profesionales Obligatorias
Carrera Bioquímica**

**Área Hematología
Hospital Provincial del Centenario**

2025

Autora: Fervari Pamela Agustina
Tutora: Bioq. Esp. Raviola Mariana

MARCO TEÓRICO

La hemofilia A es una patología hemorrágica hereditaria ligada al cromosoma X, caracterizada por la deficiencia de factor VIII (FVIII) de la coagulación. Su clínica está relacionada con fenómenos de sangrado desde una edad temprana, siendo las hemorragias articulares una característica típica que acompaña este trastorno. El tratamiento clásico está basado en la reposición del factor de coagulación deficiente, siendo el efecto adverso más significativo el desarrollo de inhibidores, que son aloanticuerpos dirigidos contra el factor administrado, lo que compromete la eficacia del tratamiento, y expone al paciente a sufrir sangrados intratratamiento.

El monitoreo y control del tratamiento por parte del laboratorio es esencial para ofrecer a cada paciente una terapia personalizada y adaptada a sus necesidades específicas. En los últimos años, se han desarrollado fármacos que han transformado el panorama terapéutico de la hemofilia, permitiendo una mayor personalización y eficacia en el tratamiento. Esto constituye un desafío constante para el laboratorio en busca de la mejor manera de controlar estas nuevas terapias.

Dentro del grupo de nuevos fármacos se encuentra el Emicizumab (EMI), un anticuerpo monoclonal que simula la acción del FVIII. El desarrollo de este medicamento vino a solucionar de alguna manera el problema de los inhibidores y se presenta hoy como una alternativa para el tratamiento no solo de la hemofilia A, sino también de la hemofilia adquirida, un trastorno poco común debido a la producción de autoanticuerpos dirigidos contra el FVIII endógeno. El control de los niveles plasmáticos de Emicizumab es indispensable para alcanzar un tratamiento personalizado y costo-efectivo, en casos de sangrados intratratamiento, o si se sospecha de desarrollo de inhibidor contra el fármaco, sin embargo, en nuestro país no contamos con calibradores y controles comerciales para realizar este seguimiento por lo que en varios laboratorios se ha validado un método para medir EMI con reactivos *home made*, y de esta manera dar una solución para estos pacientes.

HEMOFILIA

La hemofilia es un trastorno hemorrágico congénito poco común, de herencia ligada al cromosoma X. Debido a su baja prevalencia se la ubica dentro de los trastornos raros de la hemostasia. Se caracteriza por la deficiencia de un factor de coagulación

específico: el factor VIII en la hemofilia A (HA) o el factor IX en la hemofilia B (HB).

La HA es significativamente más común que la HB, representando entre el 80% y el 85% de todos los casos de hemofilia, mientras que la Hemofilia B corresponde al 15-20% restante. Ambas se caracterizan por una marcada tendencia a las hemorragias, cuya gravedad se relaciona directamente con el nivel de deficiencia del factor de la coagulación, según lo cual se lo clasifica como leve, moderada o grave (**Fig 1**).

Las personas con hemofilia leve en general no experimentan sangrados espontáneos o prolongados a menos que tengan algún desafío hemostático como lo es un traumatismo serio o una cirugía. En contraste, quienes padecen hemofilia grave suelen presentar hemorragias espontáneas en articulaciones, músculos y tejidos blandos de forma más frecuente.

Gravedad	Nivel de factor de coagulación	Episodios hemorrágicos
Grave	<1 UI/dL (<0.01 UI/mL) o <1% de lo normal	Hemorragias espontáneas en articulaciones o músculos, predominantemente en ausencia de desafíos hemostáticos identificables.
Moderada	1-5 UI/dL (0.01-0.05 UI/mL) o 1-5% de lo normal	Hemorragias espontáneas ocasionales; hemorragias prolongadas por traumatismos o cirugías menores.
Leve	5-40 UI/dL (0.05-0.40 UI/mL) o 5-<40% de lo normal	Hemorragias graves por traumatismos o cirugías mayores; hemorragias espontáneas poco comunes.

Figura 1. Relación entre la gravedad de la hemorragia y el nivel de factor de coagulación.

Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. Haemophilia. 2020; 26(Suppl 6): 1-158. <https://doi.org/10.1111/hae.14046>

Las deficiencias de factor son resultado de la herencia de variantes patogénicas en los genes de factor de coagulación F8 y F9, sin embargo, ambos genes son propensos a nuevas mutaciones por lo que el 30% de las hemofilias son producidas por mutaciones *de novo*.

Si bien durante mucho tiempo se pensó que esta patología afecta solo a varones que heredan el cromosoma X materno afectado, y que las mujeres, al tener dos

cromosomas X serían en su mayoría portadoras sanas, en los últimos años se demostró que las mujeres con hemofilia no son poco comunes. Ocurre que no solo si se heredan los dos genes X afectados se puede observar hemorragias en mujeres pertenecientes a familias de hemofílicos. Se ha demostrado que, debido al fenómeno de Lyonización, en cada célula se puede inactivar un cromosoma X diferente, entonces dependiendo del porcentaje de inactivación del cromosoma X sano se van a producir distintos fenotipos de sangrado en las mujeres.

EL LABORATORIO EN HEMOFILIA A

I. Diagnóstico

Debido a que diferentes trastornos de la coagulación podrían presentar síntomas muy similares, el diagnóstico de la hemofilia se basa en tres principios fundamentales:

- Clínica: es indispensable la comprensión de las características clínicas de la hemofilia, es decir, para diagnosticarla primero hay que sospecharla.
- Pruebas de detección: tales como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) o pruebas de la función plaquetaria para identificar la posible causa de la hemorragia (teniendo en cuenta que obtener resultados normales de las pruebas de detección no implica que no existe un trastorno de la coagulación clínicamente relevante);
- Pruebas de confirmación del diagnóstico: mediante ensayos de factor y otras investigaciones específicas adecuadas.

En función de la clínica de sangrado del paciente y los resultados obtenidos al realizar las pruebas de detección, es posible caracterizar parcialmente el trastorno de la coagulación, ya que aquellas que den un resultado anormal pueden investigarse con mayor profundidad mediante estudios de corrección o pruebas de mezclas que pueden ayudar a definir si los tiempos de coagulación prolongados se deben a la deficiencia de factor, o a anticoagulantes circulantes, o a inhibidores. Posteriormente es necesario confirmar el diagnóstico.

II. Ensayos de factor

El diagnóstico exacto de la hemofilia es indispensable para determinar el tratamiento adecuado. Un diagnóstico definitivo se basa en un ensayo de factor para demostrar la deficiencia del mismo, la determinación puede realizarse por el método coagulable

en una etapa o, en nuestro país, para el caso del FVIII, por el método cromogénico. En ambos casos la medida del factor se obtiene midiendo su actividad.

El principio del método coagulable en una etapa, consiste en la medición del tiempo transcurrido en la formación de un coágulo y está basado en el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA). Esta prueba mide la capacidad de una muestra de plasma del paciente para acortar el TTPA de un plasma comercial deficiente de FVIII.

El plasma deficiente de FVIII y la muestra del paciente son incubadas previamente con el reactivo de TTPA el cual contiene un activador de contacto (dependiendo del reactivo y presentación, pueden ser: caolín, ácido elágico, sílice, polifenoles, entre otros) y fosfolípidos. Luego de la incubación se añade cloruro de calcio para promover la formación de fibrina, midiendo el tiempo que tarda en generarse el coágulo. Finalmente, comparamos el tiempo de coagulación del paciente con una curva de calibración estándar, la cual se construye a partir de muestras con cantidades conocidas de FVIII, o de un estándar diluido. Esta comparación nos dice exactamente cuánta actividad de FVIII tiene la muestra del paciente.

Por otro lado, el método cromogénico se basa en la capacidad del FVIII de actuar como cofactor al promover la activación del FX por el FIX activado (FIXa). Luego, la actividad del FX activado (FXa) generado es evaluada mediante la hidrólisis de para-nitroanilina ligada a un sustrato específico del FXa. La liberación de para-nitroanilina se puede medir fotométricamente a 405 nm. El color producido es directamente proporcional a la actividad del FXa y, por ende, a la actividad del FVIII en la muestra.

III. Control del tratamiento

El laboratorio es indispensable en el seguimiento y control del tratamiento. La monitorización que se realiza de rutina con este tipo de pacientes incluye el coagulograma básico, la determinación de factor para verificar la respuesta al tratamiento y la adherencia del paciente, las curvas de farmacocinética para lograr una correcta dosificación del medicamento en cada caso particular y la detección de inhibidores que, como ya se mencionó, es el efecto adverso más grave que puede generarse con la terapia convencional.

El desarrollo de aloanticuerpos neutralizantes contra el factor administrado puede sospecharse cuando el paciente no responde al tratamiento con concentrados del

factor, este tipo de inhibidores se pone de manifiesto en el laboratorio mediante las pruebas de mezcla y de potenciación, ya que el inhibidor del FVIII es tiempo y temperatura dependiente.

a. Prueba de mezcla

Este ensayo se realiza si las pruebas globales de evaluación como el TP, el TTPA y el TT dan valores prolongados, más allá de los valores de referencia, ya que permite identificar el origen de la alteración y determinar si la prolongación de los tiempos de coagulación es debida a una deficiencia de factor o a la presencia de inhibidores.

La misma consiste en mezclar cantidades iguales del plasma en estudio y de un pool de plasma normal como fuente del factor deficiente, para corregir. Luego, sobre esta mezcla se ensaya la prueba que dio alterada. En el caso de que obtengamos valores prolongados de TTPA, la corrección o la no corrección del mismo se determina mediante el cálculo del índice de Rosner de la siguiente manera:

$$IR = \frac{[(TTPA_{mezcla} - TTPA_{control})]}{TTPA_{paciente}} \times 100$$

y se estima que el TTPA corrige, es decir, que el plasma normal aportó el factor que se encontraba deficiente en el plasma del paciente, si el valor del índice de Rosner es inferior a 12%. Esto indicaría un déficit de factor de coagulación orientando el examen hacia la cuantificación del mismo. Por el contrario, un índice de Rosner mayor al 12% indicaría la no corrección del TTPA y por ende la presencia de inhibidores, siendo necesaria la confirmación de los mismos mediante la prueba de potenciación. Este punto de corte del índice es diferente y debe ser definido por cada laboratorio.

b. Prueba de potenciación

Ante la sospecha de inhibidor, frente a la no corrección de la prueba por el agregado de plasma normal y considerando que una característica importante de los aloanticuerpos dirigidos contra el FVIII es que son tiempo y temperatura dependiente, es necesario realizar el ensayo de potenciación para confirmar su presencia.

Esta prueba consiste en incubar durante 2 horas a 37°C tres tubos, el primero conteniendo el plasma en estudio, el segundo con plasma normal y un tercero con una mezcla 1:1 del plasma en estudio y plasma control. Pasado el periodo de incubación, se realiza una mezcla inmediata de los tubos 1 y 2 en proporciones iguales y se determina el TTPA del mismo, dicho resultado debe ser comparado con

el TTPA de la mezcla inicial. Se confirma la presencia de inhibidor al obtener tiempos de TTPA prolongados, ya que a mayor tiempo de interacción del anticuerpo con el plasma problema a 37 °C, mayor es la inhibición de la actividad del factor.

Una vez detectado el inhibidor se titula mediante el ensayo Bethesda. En esta prueba, se mezcla en distintos tubos un lote de plasma normal, como fuente de FVIII, con una cantidad igual de distintas diluciones del plasma del paciente que tiene el inhibidor. Luego, se incuban estos tubos a 37°C durante 2 horas. En estas condiciones, el inhibidor del FVIII potencia su actividad y va a inhibir el FVIII del plasma normal. Pasado el tiempo de incubación se procede a realizar la prueba de actividad del factor de coagulación para medir la concentración residual de FVIII que quedó en cada tubo. Se busca la dilución de plasma del paciente que deje un 50% de FVIII residual y se define como 1 Unidad Bethesda aquella que corresponde al 50% del FVIII residual. Una vez detectada la dilución correspondiente, se calcula la concentración y se la divide por la inversa de la dilución para obtener el título.

TRATAMIENTO

Para tratar o prevenir hemorragias en pacientes con hemofilia, el tratamiento convencional es la terapia de reemplazo con concentrados del factor de coagulación deficiente. Estos pueden ser derivados de plasma humano, obtenido a partir de dadores y tratados con técnicas de inactivación de patógenos, o productos recombinantes obtenidos por métodos de recombinación genética. Estos últimos además pueden ser de vida media estándar, o de vida media extendida cuando tienen modificaciones en su molécula que retrasan su depuración plasmática. Todos son de administración endovenosa y la frecuencia varía entre dos, tres, cuatro o más veces por semana, dependiendo la actividad del paciente y el tipo de concentrado utilizado.

En episodios de sangrado agudo en HA, como profilaxis en casos de inhibidores o cirugía, pueden emplearse agentes *bypass*, que activan la coagulación desde otra vía como el FVII recombinante (rFVIIa) y el complejo de protrombina activado (aPCC), el cual contiene principalmente FII no activado (protrombina), FIX, FX y FVII activado.

Como ya se mencionó previamente, un inconveniente significativo del tratamiento convencional es que aproximadamente el 33% de los pacientes puede desarrollar

anticuerpos que bloquean la acción del factor administrado. Esta complicación dificulta el tratamiento y se asocia con sangrados más severos, incluyendo hemorragias cerebrales.

Ante las dificultades que presenta la terapia de reemplazo estándar, han surgido estrategias alternativas como la terapia de reemplazo con Emicizumab, los rebalanceadores de la coagulación (Concizumab, Fitusiram), que buscan restaurar el equilibrio hemostático alterado por la deficiencia de un factor procoagulante, mediante la inhibición de los mecanismos anticoagulantes naturales, e incluso la terapia génica. Esta última ofrece una solución potencialmente curativa mediante la introducción de genes que codifican los factores de coagulación deficientes.

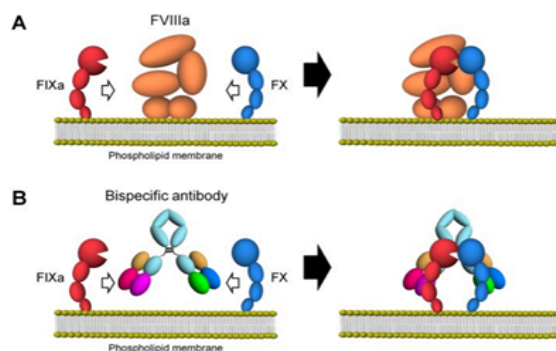
La primera de estas nuevas terapias que llega a usarse en pacientes para el tratamiento de la hemofilia A, es el Emicizumab, un anticuerpo monoclonal, que sustituye la función del factor de coagulación.

TERAPIA DE REEMPLAZO CON EMICIZUMAB

Emicizumab es un anticuerpo monoclonal bi específico, humanizado y quimérico que imita la función del FVIII. Su mecanismo de acción implica la unión al FIXa a través de uno de sus brazos y al zimógeno FX con el otro, lo que resulta en la activación del FX y la formación del complejo tenasa, capaz de producir suficiente trombina para pasar el fibrinógeno a fibrina y generar un coágulo. (**Fig 2**).

Este fármaco presenta una vida media más larga que los concentrados de FVIII, lo que permite espaciar las dosis, y luego de una primera dosis de carga, según el caso, se va a administrar de forma semanal, quincenal o mensual. Es de administración subcutánea lo que, junto con la reducción del número de dosis representa una ventaja en la mejora de la adherencia y calidad de vida de los pacientes. Presenta alta eficacia en la prevención de hemorragias y reducción de la frecuencia de episodios hemorrágicos en pacientes con o sin inhibidores del FVIII.

COMPARACIÓN DE LOS MECANISMOS DE ACCIÓN DEL FVIII Y EMI



Sampei Z, Igawa T, Soeda T, Okuyama-Nishida Y, Moriyama C, Wakabayashi T, Tanaka E, Muto A, Kojima T, Kitazawa T, Yoshihashi K, Harada A, Funaki M, Haraya K, Tachibana T, Suzuki S, Esaki K, Nabuchi Y, Hatton K. Identification and multidimensional optimization of an asymmetric bispecific IgG antibody mimicking the function of factor VIII cofactor activity. PLoS One. 2013;8(2):e57479. doi: 10.1371/journal.pone.0057479. E pub 2013 Feb 28. PMID: 23468998; PMCID: PMC3585358

Figura 2. (A) Mecanismo de acción del FVIII en la cascada de coagulación; (B) Mecanismo de acción de EMI en la cascada de coagulación.

Sin embargo interfiere con las pruebas coagulométricas habituales para el control de la hemostasia, esta interferencia es notable en la determinación del TTPA, la actividad del FVIII y la detección del inhibidor de FVIII por método coagulométrico, ya que estas pruebas miden el tiempo de coagulación total, incluido el tiempo necesario para la activación del FVIII en FVIIIa por la trombina. La molécula de EMI no necesita ser activada por trombina, por lo que estas pruebas basadas en la vía intrínseca arrojarán tiempos de coagulación manifiestamente reducidos. Por el contrario, los métodos cromogénicos, que en sus componentes tienen proteínas de origen animal, no están afectados por este medicamento y pueden utilizarse para controlar los parámetros de la coagulación durante el tratamiento.

Los ensayos clínicos mostraron que el manejo de las hemorragias en pacientes con inhibidor, en tratamiento con EMI, requiere una atención especial por parte de los médicos tratantes. Este no está indicado para el tratamiento de episodios hemorrágicos agudos y es necesaria la precaución entre dosis al administrar el tratamiento para episodios hemorrágicos cuando los pacientes reciben emicizumab, ya que varios de ellos han presentado tromboembolismo venoso o microangiopatía trombotica con la administración concomitante de aPCC.

Los estudios también han demostrado que el tratamiento es seguro y eficaz para los pacientes con hemofilia que no han desarrollado inhibidores, pero es crucial implementar un protocolo riguroso de monitoreo. Para estos pacientes, se deben realizar determinaciones periódicas de inhibidores mediante el empleo de un método

cromogénico y reactivos bovinos, ya que los métodos coagulométricos tradicionales pueden arrojar resultados incorrectos debido a interferencias.

Esta terapia también es efectiva en aquellos pacientes con hemofilia adquirida, un trastorno hemorrágico poco frecuente, debido a la producción de autoanticuerpos IgG dirigidos contra el FVIII endógeno. Afecta a unas 2 personas por millón y se presenta generalmente a partir de la edad adulta.

Si bien esta terapia ha sido aprobada con un régimen de administración basado en el peso corporal y sin un monitoreo de los niveles plasmáticos, la cuantificación plasmática de emicizumab puede ser útil en distintas circunstancias clínicas, como lo son alcanzar un tratamiento personalizado y costo-efectivo, en casos de sangrados intratratamiento, o si se sospecha de desarrollo de inhibidor contra el fármaco, sin embargo, de esto último solo se han reportado casos aislados.

I. Control de Laboratorio de Emicizumab

Debido a que en Argentina aún no están disponibles los calibradores y controles comerciales específicos, los laboratorios especializados que controlan pacientes hemofílicos han ideado un método para la cuantificación plasmática de EMI, basado en la medición de FVIII por método coagulométrico en una etapa modificado, utilizando calibradores y controles preparados "*in-house*". Esta técnica se validó en varios centros y tiene una buena correlación con la clínica del paciente.

Durante mi rotación por el área de hematología del Hospital Centenario, pude observar de cerca y realizar el control del tratamiento de los pacientes con hemofilia A, tratados con terapia convencional con distintos concentrados.

Además, tuve la posibilidad de realizar el dosaje de Emicizumab en un paciente que estaba en tratamiento con este fármaco siguiendo la técnica de dosaje de FVIII modificado.

Para esto, preparamos el calibrador a partir de una ampolla del fármaco, en este caso utilizamos una ampolla de 60mg/0,4ml de EMI, esto equivale a una concentración de 150000 ug/ml del fármaco, hacemos entonces una solución madre con una concentración de 3000 ug/ml diluyendo el contenido de la ampolla 1/50 en buffer imidazol. Realizamos una dilución 1/10 de la solución madre para obtener una concentración de 300 ug/ml de EMI, en este caso usamos plasma deficiente en FVIII como diluyente. Este es nuestro calibrador, que ahora tiene el fármaco en una base plasmática. A partir de esto, teniendo en cuenta que el rango terapéutico es entre 30

y 60 ug/ml realizamos diluciones para obtener los puntos de la curva de calibración en 150 ug/ml, 75 ug/ml, 37,5 ug/ml y 18.7 ug/ml. Además preparamos un control de 42 ug/ml diluyendo 7ul de solución madre en 493 ul de plasma deficiente.

Para el paso siguiente se trabaja con las diluciones, el control y el plasma del paciente de la misma manera, se realiza primero una dilución 1/80, mezclando 10 ul de cada dilución/plasma con 790 ul de buffer y luego se mezcla en proporción uno a uno con plasma sustrato para la determinación de FVIII, se procede entonces a medir por método coagulométrico la actividad de FVIII en cada tubo y en función de los resultados obtenidos se realiza la curva de calibración (concentración vs tiempo) en escala doble logarítmica. La concentración se puede determinar directamente extrapolando en la curva el resultado arrojado por el control y la muestra del paciente, o despejando X de la fórmula, para esto último se debe tener en cuenta que la curva de calibración se grafica como doble logaritmo, de esta manera se obtiene una relación lineal entre los parámetros, por lo que para poder determinar la concentración de EMI hay que hacer la inversa del logaritmo. **(Fig 3)**

En este caso la determinación fue necesaria porque el paciente no había recibido tratamiento en los últimos meses debido a problemas con su obra social. A pesar de esto el paciente tiene un porcentaje medible de fármaco, lo que ayuda al médico a elegir la dosis con la que se retomará el tratamiento.

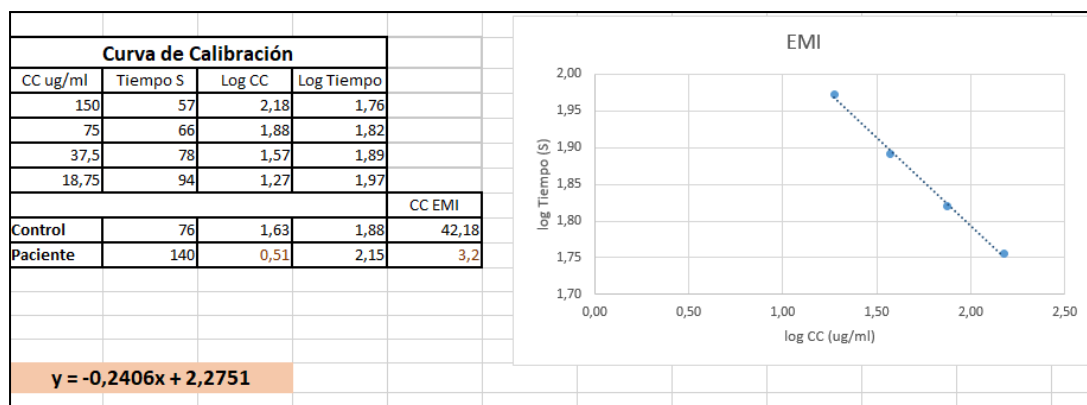


Figura 3. Curva de calibración para la cuantificación plasmática de EMI.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La búsqueda constante de mejorar la calidad de vida de los pacientes debe ser uno de los fines perseguidos por todos los integrantes del sistema de salud. En el caso de la hemofilia A, el desarrollo de nuevos fármacos como Emicizumab ofrece una

profilaxis efectiva para el sangrado que se puede administrar de forma ambulatoria, lo que reduce las hospitalizaciones y la necesidad de usar agentes *bypass*. Además, presenta un beneficio adicional en cuanto a su administración mediante inyección subcutánea, lo cual puede ser más cómodo y menos invasivo que la administración intravenosa de factores de coagulación, característica importante que permite mejorar la calidad de vida de los pacientes y aumentar la adherencia al tratamiento. El uso de EMI mejora también el tratamiento de la AH, evitando la inmunosupresión a altas dosis y, por lo tanto, reduciendo el riesgo de eventos adversos como las infecciones. Es importante destacar el papel crucial que juega el laboratorio en el seguimiento de los pacientes tratados con EMI. El desarrollo de una metodología alternativa a la comercial para poder medir el fármaco permite realizar un monitoreo de la terapéutica mediante la cuantificación de sus niveles plasmáticos, ajustando las dosis en función de los requerimientos especiales de cada paciente. Finalmente, es importante destacar que, como personal de laboratorio, nuestra manera de contribuir consiste en aplicar los conocimientos adquiridos durante nuestra formación académica para desarrollar soluciones alternativas que nos permitan afrontar con eficacia los desafíos que se presenten.

BIBLIOGRAFÍA

1. Srivastava A, Santagostino E, Dougall A, et al. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. Haemophilia. 2020; 26(Suppl 6): 1-158. <https://doi.org/10.1111/hae.14046>
2. Suelo E, Annetta E, Frontroth J, Cervio C, Bianco B, Sciuccati G y Hepner M (2023). Validación de un método para la cuantificación plasmática de emicizumab. <https://revistahematologia.com.ar/index.php/Revista/article/view/551/823>
3. Arbesú M. G. (2019). Emicizumab: nuevo tratamiento para personas con hemofilia A con y sin inhibidor. <https://revistahematologia.com.ar/index.php/Revista/article/view/219/278>
4. World Federation of Hemophilia, (2012). Hemofilia Adquirida <https://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1187.pdf>
5. Poston, J y Kruse, R (2023). The role of emicizumab in acquired hemophilia A. <https://doi.org/10.1182/hematology.2023000462>
6. Montserrat, J. C y de la Vega, A. M; Instituto LICON (2019). Importancia del factor VIII Cromogénico en el laboratorio de Hemostasia <https://licon.com.mx/importancia-del-factor-viii-cromogenico-en-el-laboratorio-de-hemostasia>
7. World Federation of Hemophilia, (2018). Los inhibidores de la Hemofilia: Información Básica. <https://www1.wfh.org/publication/files/pdf-1123.pdf>

CUANTIFICACIÓN PLASMÁTICA DE EMICIZUMAB PARA EL MONITOREO DE PACIENTES CON HEMOFILIA A CON Y SIN INHIBIDORES

Fervari, Pamela¹; Detarsio, Germán²; Schoepf, Maria Victoria²; Maroni, Georgina²; Gaggioli, Stefan²; Casesi, Paulina²; Pratti, Arianna²; Raviola, Mariana²

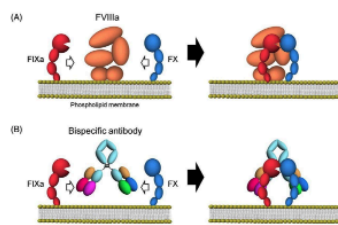
¹Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. ²Servicio de Hematología, Sala 9, Hospital Provincial del Centenario

INTRODUCCIÓN

La hemofilia A es una patología hemorrágica hereditaria, caracterizada por la deficiencia de factor VIII (FVIII) de la coagulación. El tratamiento clásico está basado en la reposición del factor de coagulación deficiente, siendo el efecto adverso más significativo el desarrollo de inhibidores, que son aloanticuerpos dirigidos contra el factor administrado. Para resolver esta problemática, se han desarrollado nuevos fármacos, dentro de este grupo se encuentra el Emicizumab (EMI), un anticuerpo monoclonal que simula la acción del FVIII. El control de los niveles plasmáticos de EMI en algunas circunstancias es necesario para alcanzar un tratamiento personalizado y costo-efectivo, sin embargo, en nuestro país no contamos con calibradores y controles comerciales para realizar este seguimiento por lo que en varios laboratorios se ha validado un método para medir EMI con reactivos "in house", y de esta manera dar una solución para estos pacientes.

OBJETIVO

Control de pacientes hemofílicos mediante una técnica validada, que tiene una buena correlación con la clínica del paciente. Permite la cuantificación plasmática de EMI, basado en la medición de FVIII por método coagulométrico en una etapa modificada, utilizando calibradores y controles preparados "in-house".



MARCO TEORICO

EL LABORATORIO EN HEMOFILIA A

I. Diagnóstico: Se basa en tres principios fundamentales

- Clínica: para diagnosticarla primero hay que sospecharla.
- Pruebas de detección: tales como el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) o pruebas de la función plaquetaria para identificar la posible causa de la hemorragia.
- Pruebas de confirmación del diagnóstico: mediante ensayos de factor.

II. Control del tratamiento

- Coagulograma básico.
- Determinación de factor para verificar la respuesta al tratamiento y la adherencia del paciente.
- Curvas de farmacocinética para lograr una correcta dosificación del medicamento en cada caso particular.
- La detección de inhibidores mediante pruebas de mezcla y pruebas de potenciación.

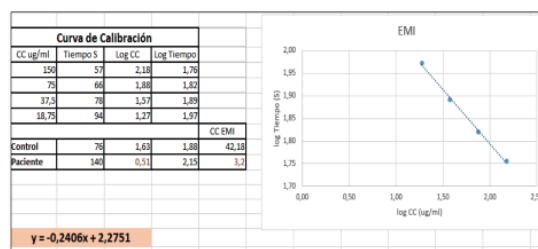
METODOLOGÍA

1. PREPARACIÓN DE CALIBRADORES

ETAPA	DETALLE
Ampolla del fármaco a partir de la cual se prepara el calibrador	60 mg/0.4 ml = 150.000 ug/ml
Solución madre	3000 ug/ml (dil 1/50 en buffer imidazol)
Calibrador base	300 ug/ml (dil 1/10 en plasma deficiente de FVIII)
Curva	150 – 75 – 37.5 – 18.7 ug/ml
Control	42 ug/ml

2. PROCEDIMIENTO

- Dilución 1/80 de calibradores, control y muestra.
- Mezcla 1:1 con plasma sustrato para FVIII.
- Determinación de FVIII por método coagulométrico en una etapa.
- Construcción de la curva doble logarítmica.
- Cálculo de la concentración mediante extrapolación.



Se realizó la determinación en un paciente que no había recibido tratamiento en los últimos meses debido a problemas con su obra social. A pesar de esto el paciente tiene un porcentaje medible de fármaco, lo que ayuda al médico a elegir la dosis con la que se retomará el tratamiento.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El desarrollo de nuevos fármacos como Emicizumab ofrece una mejora en el tratamiento y en la calidad de vida de los pacientes con Hemofilia A, ya que proporciona una profilaxis efectiva para el sangrado y se puede administrar de forma ambulatoria mediante inyección subcutánea, lo cual es más cómodo y menos invasivo, característica importante que permite aumentar la adherencia y reduce las hospitalizaciones y la necesidad de usar agentes bypass. Además, plantea para el laboratorio el desafío de desarrollar métodos para monitorizar el tratamiento con estos nuevos fármacos y brindar la posibilidad al médico de ofrecer a cada paciente una terapia personalizada y adaptada a sus necesidades específicas.

ESTE LIBRO REÚNE LOS TRABAJOS FINALES Y PÓSTERS ELABORADOS POR ESTUDIANTES DE LA CARRERA DE BIOQUÍMICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO, EN EL MARCO DE LA PRÁCTICA PROFESIONAL OBLIGATORIA 2025.

LA PUBLICACIÓN BUSCA VISIBILIZAR LAS PRODUCCIONES ACADÉMICAS DESARROLLADAS DURANTE ESTA INSTANCIA FORMATIVA, RECUPERAR EXPERIENCIAS DE INTEGRACIÓN ENTRE SABERES DISCIPLINARES Y PRÁCTICAS PROFESIONALES, Y DEJAR REGISTRO DEL TRABAJO REALIZADO POR ESTUDIANTES, TUTORES Y EVALUADORES.

COMO MEMORIA ACADÉMICA DE LA COHORTE, ESTE VOLUMEN RECONOCE EL VALOR DE LA PPO COMO ESPACIO DE SÍNTESIS, APRENDIZAJE SITUADO Y APROXIMACIÓN AL EJERCICIO PROFESIONAL BIOQUÍMICO.

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO**



Universidad
Nacional
de Rosario