



# REVISTA

## DEL COLEGIO DE MICROBIÓLOGOS Y QUÍMICOS CLÍNICOS DE COSTA RICA

Volumen 23, N°1 • Enero - abril, 2017 • ISSN:2215-3713

# Enero - abril

## CONTENIDO

### Artículos

- Replanteamiento del límite superior de referencia para la determinación de niveles de alanina aminotransferasa
  - Estado actual de las pruebas de diagnóstico en el punto de atención
  - *Acanthamoeba* genotype T4 keratitis in a patient with Thygeson's superficial punctate keratitis
  - Rinosinusitis fúngica: expectativas diagnósticas de esta micosis
  - Verificación del método Accu-Chek Inform II® para la medición de la concentración de glucosa sanguínea en pacientes hospitalizados
- ### Reseña de libro
- Guía de artrópodos de importancia médica y veterinaria



## COLEGIO DE MICROBIÓLOGOS Y QUÍMICOS CLÍNICOS DE COSTA RICA

Tels.: (506) 2224-2602  
(506) 2283-8014  
Fax: (506) 2225-5138  
Apartado postal: 4614-1000  
colmqc@racsa.co.cr  
www.microbiologos.cr

### JUNTA DIRECTIVA 2017-2018:

**Presidenta.** Dra. Lidiette Salazar Palma  
**Secretaria.** Dra. Guiselle Hernández Brenes  
**Tesorera.** Dra. Carolina Loría Acosta.  
**Fiscal.** Dr. Dennis León Alán  
**Vocal 1.** Dr. Roger Soto Palma  
**Vocal 2.** Dr. Tony Arrieta Araya  
**Vocal 3.** Dr. Rolando Leiva Escalante

### COMITÉ EDITORIAL:

Dr. Gabriel Muñoz Cernadas (Editor jefe)  
Universidad de Ciencias Médicas  
CEC-ICIC  
Dr. César Cerdas Quesada  
Hospital La Católica.  
Dr. Rodrigo Cruz Jiménez  
Hospital Clínica Bíblica  
Dr. Marco Luis Herrera Hidalgo  
Hospital Nacional de Niños, CCSS.  
Dra. Carolina Loría Acosta  
Hospital San Juan de Dios, CCSS.  
Dr. Gustavo Villegas Bermúdez  
Hospital Nacional de Niños, CCSS.

### Diagramador:

Jorge Vargas González

ISSN: 2215-3713

Derechos reservados ©2017

JVDISEÑO

ju.casa7@gmail.com / 8387+4343



La Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica es publicada cuatrimestralmente por este colegio profesional. Constituye un medio de divulgación del quehacer científico de investigadores nacionales e internacionales y cumple con un propósito de responsabilidad social con nuestros colegiados y con los gremios profesionales afines.

Esta revista publica trabajos originales en español e inglés, es de acceso libre y sin costo de suscripción.

## ÍNDICE

### Nota del editor

- 3 Dr. Gabriel Muñoz-Cernadas, Editor jefe.

### Artículos

- 4 Replanteamiento del límite superior de referencia para la determinación de niveles de alanino aminotransferasa, Lorena Isabel Valverde-Bolaños, Laboratorio Clínico, Hospital San Rafael, Alajuela, CCSS. Ana Victoria León-Solano, Laboratorio de Análisis San Martín
- 13 Rinosinusitis fúngica: expectativas diagnósticas de esta micosis, Allan Ignacio Valverde-Vindas, Jefe sección Micología Médica, Laboratorios LABIN SA. Greivin Rodríguez-Rojas, Médico especialista en Anatomía Patológica, CCSS
- 20 Estado actual de las pruebas de diagnóstico en el punto de atención, Xinia Porras-Sánchez, Laboratorio Clínico Hospital Clínica Bíblica, San José
- 25 Verificación del método Accu-Chek Inform II® para la medición de la concentración de glucosa sanguínea en pacientes hospitalizados, Xinia Porras-Sánchez, Laboratorio Clínico Hospital Clínica Bíblica, San José.
- 33 *Acanthamoeba* genotype T4 keratitis in a patient with Thygeson's superficial punctate keratitis, Diego Rodríguez-Mena, Clínica Da Luz, Alajuela, Alajuela, Costa Rica. Lissette Retana-Moreira, Elizabeth Abrahams-Sandí, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San Pedro, San José, Costa Rica, y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Universidad de Costa Rica.

### Reseña de libro:

- 36 Guía de artrópodos de importancia médica y veterinaria, Gabriel Muñoz-Cernadas, Editor jefe
- 37 • Próximos eventos
- 38 • Instrucciones para los autores

## Nota del editor

---

**L**a investigación es un proceso orientado a la obtención de nuevo conocimiento que pueda ser aplicado para la solución de problemas, en nuestro caso, de carácter científico. La verdadera ciencia se crea en el laboratorio, y cada vez es más importante comunicar aquellos hallazgos que se van produciendo para que estén disponibles y que se continúe con el proceso creativo antes mencionado.

Teniendo siempre en cuenta que esta revista es un medio para divulgar el quehacer científico en nuestro medio, se ha iniciado el proceso de creación de una plataforma digital en miras de alcanzar una mayor divulgación de los trabajos publicados, adaptándonos a los nuevos tiempos a través del uso de las herramientas disponibles de los sistemas de información.

A partir de este año la edición de la revista será cuatrimestral, contando con tres números al año que se publicarán el último día de los meses de abril, agosto y diciembre. Esto nos permitirá realizar un trabajo más cuidadoso en la selección de los trabajos que se publiquen y mejorar con cada número publicado la calidad de la revista. Los requisitos e instrucciones para publicar serán siempre las mismas.

Espero que los trabajos presentados en este número llene las expectativas de todos nuestros lectores. 🌐

Dr. Gabriel Muñoz-Cernadas

Editor jefe

# Replanteamiento del límite superior de referencia para la determinación de niveles de alanino aminotransferasa

## Reassessment of the upper limit of normal range for assay of alanine aminotransferase levels

Lorena Isabel Valverde-Bolaños<sup>I</sup>, Ana Victoria León-Solano<sup>II</sup>

### Resumen:

La determinación de alanino aminotransferasa (ALT) se realiza rutinariamente; sin embargo, su intervalo de referencia en las últimas décadas ha entrado en discusión ya que se han realizado estudios para poder ampliar y mejorar su utilización tanto en diagnóstico como en seguimiento de diversas patologías. Esto ha llevado a nuevos límites superiores de referencia en diversas poblaciones y nuevas directrices en algunas enfermedades, así mismo, nace la necesidad de continuar con estudios que brinden la información requerida para otras poblaciones con la finalidad de mejorar la interpretación de los reportes y con esto el manejo clínico de los pacientes.

**Palabras clave:** alanino aminotransferasa, límite superior, enfermedad hepática.

### Abstract:

ALT measurement consist on a routine analysis; however, its reference range has been a topic of discussion for the last decades. A number of studies have been performed in order to improve ALT use, both in diagnosis and monitoring of diverse pathologies. This has led to the establishment of new ALT upper limits in some countries and new guidelines for some diseases. Likewise, the necessity of continuing with research that brings the required information for other countries is present, to improve laboratory results interpretation and clinic management of the patients.

**Key words:** alanine aminotransferase, superior limit, liver disease

### Generalidades

La enzima ALT cataliza la transferencia de grupos amino para formar el metabolito hepático oxaloacetato por medio del piridoxal fosfato (vitamina B6) como cofactor. Esta enzima se encuentra mayormente en el citosol del hepatocito y su actividad en el hígado es 3000 veces la que presenta en suero. Sin embargo, se puede encontrar en otros órganos como corazón y riñón, aunque en muy bajas concentraciones <sup>(1)</sup>.

Dada la actividad que presenta en el hígado, en casos de daño hepatocelular, la liberación de ALT va a provocar un

incremento de la actividad en suero. Esto es utilizado en la clínica para el diagnóstico y control de la enfermedad hepática, donde la han considerado como un marcador confiable y sensible. <sup>(1)</sup>

Asimismo, han asociado la determinación de la actividad de la ALT como indicador de salud, ya que se ha relacionado con obesidad, enfermedad cardiovascular, entre otras condiciones que se encuentran ligadas al riesgo de padecer hígado graso no alcohólico. Además, esta determinación se considera un marcador de bajo costo apropiado para el tamizaje de enfermedad hepática, principalmente en zonas donde estas patologías son prevalentes <sup>(2,3)</sup>.

A pesar de su amplio uso y conocida aplicación, la presencia de valores fuera de los intervalos de referencia para ALT es en muchas oportunidades ignorada o minimizada a nivel clínico, ya que la mayoría de estos

Recibido el 23/12/2016, aceptado para su publicación el 08/02/2017

I. Laboratorio Clínico, Hospital San Rafael, Alajuela, CCSS

II. Laboratorio Clínico San Martín

Correspondencia: lorevalverdeb@yahoo.com

pacientes son asintomáticos. A ello se suma la utilización de valores de referencia que no han sido adaptados a las diferentes poblaciones y que cuentan con un límite superior poco sensible para la detección de estadios tempranos de enfermedad hepática <sup>(1,2)</sup>.

El límite superior normal para ALT fue establecido en 40 UI/L, sin importar sexo o índice de masa corporal <sup>(4,5)</sup>. Este se estimó a partir de una población que incluía pacientes con otros factores que pueden aumentar el resultado de ALT, como sobrepeso, síndrome metabólico, hepatitis C, hígado graso no alcohólico, entre otros <sup>(6,7,8)</sup>.

Estudios recientes han sugerido bajar los límites superiores normales de ALT a 30 UI/L en varones y 19 UI/L en mujeres, lo cual incrementaría la sensibilidad de esta medición para identificar pacientes con enfermedad subclínica hepática. Asimismo, brindaría insumos para adecuar las guías de manejo de pacientes con enfermedades crónicas del hígado, principalmente en el seguimiento e inicio de terapia <sup>(9,10,11)</sup>.

En Costa Rica no se cuenta con publicaciones de estudios sobre la distribución de la actividad que presenta la ALT en la población, aun cuando la enfermedad crónica hepática se encuentra entre las 10 principales causas de muerte a nivel mundial y se ha establecido que la incidencia y mortalidad del carcinoma hepatocelular va en aumento, por lo cual se debe enfrentar como problema de salud pública <sup>(1,2,12)</sup>.

#### **Utilidad clínica de la ALT relacionada con el riesgo de mortalidad**

Tradicionalmente el análisis de la actividad de ALT se ha utilizado como prueba de diagnóstico presuntivo para enfermedad hepática crónica, de igual forma datos emergentes resaltan su valor potencial como medida de salud general y mortalidad, aun cuando los procesos que amenazan la vida no se originen en el hígado. Ya que el aumento en la actividad puede ser debido a otros factores de riesgo incluyendo obesidad, colesterol sérico, concentración de glucosa plasmática, consumo de alcohol, entre otros, la ALT puede servir de marcador de un estado proinflamatorio que está asociado con un riesgo cardiovascular mayor aun entre individuos con síndrome metabólico <sup>(13)</sup>.

Entre los estudios realizados se encuentra un cohorte en los años de 1990 y 2000 en Corea, donde incluyeron un total de 142 055 individuos con edades entre 35 y 59 años, ellos encontraron que la actividad de ALT en hombres correlacionó con una mortalidad más alta en todas las causas, ya que con ALT  $\geq$  100 U/L presentaron 59 veces más riesgo de muerte por enfermedad hepática y 3 veces más riesgo por enfermedad cardiovascular. Por su parte, los resultados obtenidos en mujeres no fueron concluyentes <sup>(2)</sup>.

Un análisis similar fue llevado a cabo en Estados Unidos, en este caso realizaron un estudio en 1995 en el cual

determinaron la actividad de ALT en 6823 pacientes. De ellos, un 13.4% tuvo resultados fuera del límite superior. En este estudio encontraron que valores menores al límite superior normal se asociaron a un menor riesgo de muerte <sup>(1)</sup>.

Asimismo en Estados Unidos, realizaron un estudio con 8 381 adultos con ausencia de infarto al miocardio y sin falla cardíaca congestiva, en el cual reportaron que los sujetos con ALT aumentada tenían un valor de colesterol total mayor, HDL más bajas, y presión arterial más alta y eran más propensos a ser diabéticos. Al utilizar la fórmula de Framingham para estimar el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria, encontraron que los hombres tenían 1.3 veces incrementado el riesgo dentro de 10 años, mientras que en mujeres había un incremento de 2.1 veces en el riesgo <sup>(14)</sup>.

Otro estudio realizado en Estados Unidos con 6 442 pacientes asintomáticos, encontró niveles de ALT mayores a 40 IU/L en 12% de los sujetos y entre 19 y 40 UI/L en el 25 %. Asimismo, encontró asociación entre un nivel normal o alto de ALT y niveles aumentados de LDL, partículas de LDL, LDL pequeño y denso, además, con una asociación inversa con los valores de HDL, APOA1 y lipoproteína de alta densidad clase 2, con esto concluyó que se encuentra asociado a los marcadores de riesgo cardiovascular <sup>(15)</sup>.

#### **Utilidad clínica de la ALT en la detección de enfermedad hepática**

La determinación de la actividad de ALT es útil en la detección de enfermedades hepáticas que en estadios tempranos son asintomáticas, tales como hepatitis virales asintomáticas e hígado graso no alcohólico, que representan una epidemia que permanece ampliamente no diagnosticada a nivel mundial. La asociación de valores aumentados de actividad de ALT con enfermedad hepática clínicamente significativa aumenta particularmente si se asocia con la presencia concomitante de otros síntomas como fatiga, anorexia o prurito, además se debe considerar el grado de elevación y la persistencia en el tiempo <sup>(1,9)</sup>.

En el caso del IMC, a mayor índice se observan valores de actividad de ALT aumentados, los investigadores indican que este fenómeno se puede explicar porque la actividad de la enzima es más alta en personas con hígado graso, quienes generalmente tienen un IMC más alto. De forma similar, pacientes con hiperlipidemia o hiperglicemia también pueden tener hígado graso como parte del síndrome metabólico <sup>(1)</sup>.

Por otro lado, hay una fuerte correlación entre ALT y el grado de inflamación hepática en general. Pacientes con altos niveles de ALT tienden a tener inflamación más severa en el hígado que aquellos con valores normales. En contraste, uno de los parámetros más relevantes para el pronóstico del paciente, como lo es el grado de fibrosis, no cuenta con una correlación fuerte con la actividad de

la ALT, ya que comúnmente se encuentran pacientes cirróticos con ALT normal o levemente elevada <sup>(1)</sup>.

El nivel de ALT también guía sobre la urgencia y magnitud de una investigación adicional, en el caso de aumentos menores a 5 veces el límite superior normal, se debe analizar nuevamente antes de que se lleve a cabo extensas pruebas diagnóstica; si se confirma el resultado y la ALT se mantiene persistentemente elevada, se indican otros análisis. Por su parte cuando el nivel de ALT es mayor a 5 veces el límite superior normal, sugiere un proceso de enfermedad hepática activo, potencialmente serio y se deben iniciar análisis adicionales sin esperar confirmar la ALT persistentemente elevada <sup>(1)</sup>.

Niveles de ALT mayores a 15 veces el límite superior normal indican daño celular hepático agudo severo y la evaluación debe ser iniciada de inmediato. El diagnóstico diferencial para pacientes con daño hepático agudo severo incluye la hepatitis viral aguda, hepatitis isquémica u otros desórdenes vasculares como la oclusión aguda del flujo venoso o hepatitis mediada por toxinas <sup>(1)</sup>.

La hepatitis aguda autoinmune, linfoma hepático o la oclusión biliar aguda pueden presentar también actividad de ALT altamente elevada. En estos casos el diagnóstico debe basarse en el historial médico principalmente en la presencia de episodios de isquemia, factores de riesgo de adquisición de hepatitis viral, exposición o sobredosis de medicamentos o hepatotoxinas (como la isoniazida o acetaminofén), además de complementarse con pruebas de laboratorio como serología, para identificar problemas autoinmunes y hepatitis virales, junto a estudios de imágenes que permitan identificar oclusión del flujo venoso, obstrucción biliar y linfadenopatía anormal <sup>(1)</sup>.

Según un estudio realizado por Kim y colaboradores hay una relación positiva entre la concentración de aminotransferasa aun dentro del rango normal empleado en la actualidad (35-40 UI/L) y la mortalidad por enfermedad hepática. Comparado con la concentración < 20U/L, los riesgos relativos ajustados para una concentración de ALT de 20 U/L a 29 U/L y 30 U/L a 39 U/L fueron de 2.9 (con un 95% de confianza, intervalo de 2.4 a 3.5) y de 9.5 (intervalo de 7.9 – 11.5) en hombres y 3.8 (intervalo de 1.9 a 7.7) y 6.6 (intervalo de 1.5 – 25.6) en mujeres, respectivamente. Por lo tanto para prevenir muerte temprana, individuos con concentraciones ligeramente aumentadas deben ser observados con cuidado y analizados para detectar la presencia de enfermedades <sup>(2)</sup>.

El ajuste del límite normal de aminotransferasas séricas puede ser necesario ya que el uso del valor actual puede subestimar la prevalencia de enfermedad hepática, para esto llevaron a cabo un estudio con 115200 hombres y 67932 mujeres, con edades entre los 35 – 59 años en 1990, para cada uno contaban con datos de ALT, fumado

e ingesta de alcohol y se concluyó que el mejor valor de corte de ALT para predicción de enfermedad hepática es 31 U/L en hombres, el valor para mujeres no pudo ser establecido por los investigadores pero afirman que se esperaría que fuera menor <sup>(2)</sup>.

Como no existían estudios sobre el nivel normal de ALT para los adultos sanos iraníes en bajo riesgo de enfermedad crónica hepática, en el 2003 Mehdi y colaboradores publicaron un estudio cuyo objetivo era evaluar el valor de referencia de ALT en una población de bajo riesgo de enfermedades crónicas subclínicas en la ciudad capital de Teherán e investigar los factores asociados con ALT anormal en esta población. La muestra consistió de 1959 donadores de sangre aparentemente sanos del Centro de Donación de sangre de Teherán que asistieron entre marzo de 2001 y abril de 2002 <sup>(16)</sup>.

El estudio enfatizó el hallazgo de otros estudios anteriores de que hay una fuerte correlación entre el valor de ALT, el sexo y el índice de masa muscular, lo que probablemente refleje la asociación entre esteatosis hepática y obesidad. La correlación entre el IMC fue mayor en hombres que en mujeres, además, el valor de límite superior de referencia de ALT puede diferir entre diferentes naciones y poblaciones y puede estar influenciado por el IMC medio y el uso de alcohol en las diferentes sociedades. Por estas razones hacen la sugerencia de que los valores de referencia para personas con sobrepeso deben ser definidos igual que para las personas sin sobrepeso; sin embargo, si sugieren que el intervalo de referencia debe ser definido de acuerdo al sexo de la personas <sup>(16)</sup>.

### ***Enfermedad hepática metabólica***

Elevaciones leves en el nivel de ALT pueden ocurrir en la hemocromatosis hereditaria, un desorden genético relativamente común de sobrecarga de hierro en personas descendientes de Europa del norte. En estos casos se presenta usualmente una saturación de hierro y un nivel de ferritina elevados; la confirmación diagnóstica se realiza por la determinación de la homocigocidad de la mutación del gen HFE (C282Y/C282Y) <sup>(1)</sup>.

Sin embargo, la realización de biopsia hepática con cuantificación de hierro permanece como un procedimiento de diagnóstico para definir la extensión del daño hepático y la cantidad de hierro depositado. Los síntomas de enfermedad no son notados hasta la cuarta o quinta década de vida en hombres y la quinta o sexta década en mujeres. Es particularmente importante identificar a estos pacientes en las primeras décadas de vida, porque el daño hepático se puede prevenir con flebotomías terapéuticas periódicas. Elevaciones leves de ALT pueden también identificar otros desórdenes genéticos como la enfermedad de Wilson y la deficiencia de alfa 1 antitripsina. Y elevaciones leves de ALT también son observadas en personas con enfermedad celíaca <sup>(1)</sup>.

### **Enfermedad hepática autoinmune**

La hepatitis autoinmune puede también ser identificada reconociendo elevaciones leves o moderadas de la actividad de ALT, en este caso los pacientes pueden ser asintomáticos o tener síntomas inespecíficos como fatiga y artralgias. Una vez que el diagnóstico es confirmado con análisis serológicos como los anticuerpos antinucleares (ANA) y anticuerpos anti músculo liso (SMA) y una biopsia hepática, la terapia inmunosupresora se debe considerar. La actividad de aminotransferasa juega un papel importante en determinar la elección del tratamiento y la respuesta al tratamiento en aquellos con terapia inmunosupresora. Aunque la actividad AST ha sido tradicionalmente usada para este criterio, la actividad de ALT es importante en las decisiones de manejo <sup>(1)</sup>.

### **ALT en hepatotoxicidad inducida por drogas**

El uso de muchos medicamentos ha sido asociado con niveles elevados de ALT, incluyendo también los medicamentos adquiridos sin receta médica y las preparaciones herbales. Si se confirman niveles elevados de ALT, los medicamentos deben ser discontinuados, y los niveles de ALT monitoreados. En caso de permanecer elevada, otras etiologías deben ser consideradas. Además, si los niveles de ALT siguen aumentando o están asociados con el desarrollo de síntomas o alteración de la función de síntesis del hígado, el medicamento debe ser discontinuado <sup>1</sup>.

### **ALT en hígado graso no alcohólico**

La prevalencia de hígado graso no alcohólico, así como el síndrome metabólico, paralelamente con la obesidad, están incrementando rápidamente en la población americana <sup>(17, 18)</sup>; se han reportado que en estos pacientes el analizar la ALT facilitaría un diagnóstico oportuno, antes de que se establezca una fibrosis hepática irreversible. Ya que no se cuenta con análisis bioquímicos definitivos para confirmar este diagnóstico, pacientes con síndrome metabólico con ALT aumentada pueden representar un subgrupo propenso al riesgo de aterosclerosis, que pueden llevar a enfermedad de arteria coronaria o cerebrovascular <sup>(19)</sup>.

Se ha encontrado que la determinación de ALT representa un tamizaje adecuado para detectar hígado graso no alcohólico, ya que los estudios indican que niveles elevados de ALT pueden correlacionarse con la severidad del daño hepático en estos pacientes. Por ejemplo, en un estudio en el cual participaron 233 mujeres con obesidad mórbida, el 60% tenían algún grado de fibrosis hepática y la mayoría tenían un valor elevado de ALT. Además, 28% de estas pacientes con fibrosis leve y 68% de las pacientes con fibrosis avanzada mostraron elevaciones de la actividad durante el estudio; por el contrario, en las pacientes sin fibrosis solo el 17% mostró elevación de ALT <sup>(20, 21)</sup>.

### **ALT en enfermedad hepática alcohólica**

En este caso, la actividad de AST está característicamente elevada en comparación con la actividad del ALT, aunque una leve elevación de ALT es común. Se ha propuesto que esto se debe a la vida media mayor de la AST mitocondrial liberada en respuesta al alcohol y la coexistencia de la deficiencia de piridoxal 6 fosfato en alcohólicos. La información exacta sobre la historia de uso de alcohol debe ser obtenida con un cuestionamiento riguroso a través de herramientas adecuadas en los pacientes con elevaciones de aminotransferasas, o bien con el uso de alcoholemias al azar, ya que es importante distinguirla del hígado graso no alcohólico porque a nivel histológico pueden ser indistinguibles estas dos entidades <sup>(1)</sup>.

### **Utilidad clínica de la ALT en la detección de hepatitis**

En el caso de la hepatitis crónica los hallazgos característicos se focalizan en el predominio de lesión celular, inflamación, necrosis y la progresión con la acumulación de fibrosis, eventualmente llevando a cirrosis. En estos casos la progresión desde el inicio de la enfermedad hasta la fase terminal puede tomar años o décadas y varía debido a la enfermedad que la originó y de paciente a paciente. Por eso hay una amplia oportunidad para diagnosticar presuntivamente la enfermedad hepática en un estado pre-cirrótico en el cual se puede dar un manejo adecuado para evitar la cirrosis, fase terminal o carcinoma hepatocelular <sup>(1, 22, 23)</sup>.

La infección crónica de hepatitis B representa una de las principales cargas de salud pública a nivel mundial, además, aumenta el riesgo de padecer cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular, siendo la responsable de 500 000 a 1.2 millones de muertes anualmente <sup>(24, 25)</sup>. En el diagnóstico y seguimiento de esta enfermedad se presenta el desafío de diferenciar los casos crónicos activos de los portadores inactivos, ya que presentan el mismo perfil serológico <sup>(1, 26)</sup>.

Por lo tanto la guía médica actual para esta infección, utiliza la determinación de ALT, los niveles de ADN de HBV y el estado de antígeno e para hepatitis B (HBeAg) para evaluar la decisión de realizar biopsia hepática o iniciar la terapia antiviral. Sin embargo, llevar a cabo dicho panel de pruebas en países de bajos ingresos económicos es difícil ya que los costos son elevados, por lo cual se encuentra la necesidad de utilizar marcadores de menor costo; en este sentido algunos estudios indican que la ALT es un marcador sérico confiable que no es tan variable en las poblaciones como si lo es el HBV <sup>(27,28,29)</sup>.

Estudios previos reportaron que incrementos de niveles de ALT sobre el límite superior normal pueden predecir disfunción hepática con un 90% de especificidad y 56% de sensibilidad. Encontraron que efectivamente el nuevo valor base de ALT  $\geq 30$  IU/L en varones y  $\geq 19$  IU/L en mujeres junto con niveles de ADN de HBV  $\geq 100000$  copias/ mL son las técnicas más convenientes

para predecir HBV activa crónica en pacientes HBeAg negativos <sup>(27)</sup>.

Por otra parte, se estableció una correlación positiva entre el nivel de ADN, actividad histológica, fibrosis y el nivel de ALT en los pacientes que presentaban HBeAg negativo; en el caso de los sujetos con el marcador positivo no se presentó la relación ya que con menos de 100 000 copias tenía 2 veces el límite superior. En este caso contrario a las recomendaciones de usar 2 ULN para iniciar tratamiento, se considera que utilizar 1,5 veces el ULN, ya que tiene más sensibilidad para identificar casos con moderada necro inflamación y fibrosis significativa <sup>(30)</sup>.

Varios estudios en Italia, China, Corea y Hong Kong mostraron que niveles de ALT superiores a los límites de referencia, se encuentran fuertemente asociados con un riesgo incrementado de cirrosis hepática en pacientes infectados con HBV <sup>(28,31)</sup>. Estudios recientes revelaron que en pacientes con HBeAg negativo, niveles altos de ALT superiores a 5 veces el límite superior normal se relacionaban con fibrosis avanzada y ALT < 30 UI/L en varones y > 19 UI/L en mujeres, y con una línea basal de ADN de HBV > 100 000 copias/mL, y puede diferenciar mejor entre pacientes crónicos activos y portadores crónicos inactivos <sup>(31, 32)</sup>.

Además, entre los pacientes con HBV, el nivel de ALT está asociado con progresión de la enfermedad hepática y desarrollo de morbilidad, asimismo, el riesgo acumulado de desarrollar complicaciones es el más alto en pacientes con valores de ALT por lo menos de 1 a 2 veces sobre el límite superior normal <sup>(33)</sup>. Entre los pacientes que son positivos para el antígeno e de hepatitis B (HBeAg), la ALT es también predictor de una seroconversión de HBeAg <sup>(33)</sup>, por lo tanto, en pacientes con HBV, la ALT es útil no solo para determinar la presencia de enfermedad hepática significativa y la necesidad de tratamiento, sino también, en estimar el futuro curso en la historia natural de la infección <sup>(1)</sup>.

Estos estudios indican que el nivel de ALT como un marcador sérico confiable lleva al hecho que la historia natural del HBV puede variar de una población a otra <sup>(29)</sup>. De esta forma, se debe determinar el valor de corte para la ALT sérica de acuerdo a cada población, para poder predecir los pacientes con HBV activa. La necesidad del PCR y de un procedimiento invasivo como la biopsia, pueden ser erradicados si el marcador bioquímico de ALT con altos valores predictivos positivos o negativos de pacientes con HBeAg negativo puede ser obtenido y minimizar el tiempo de terapia y el costo del PCR <sup>(27)</sup>.

Assy y colaboradores en 2009, reportaron que ALT ≥ 30 IU/L en varones y ≥ 19 IU/L en mujeres junto con niveles de ADN de HBV ≥ 100000 copias/ mL pueden clasificar a un paciente en un estado de portador activo. <sup>(32)</sup>. Estudios previos reportaron que incrementos de niveles de ALT sobre el límite superior normal pueden predecir disfunción hepática con un 90% de especificidad y 56% de sensibilidad <sup>(27)</sup>.

Encontraron que efectivamente el nuevo valor base de ALT ALT ≥ 30 IU/L en varones y ≥ 19 IU/L en mujeres junto con niveles de ADN de HBV ≥ 100000 copias/ mL son las técnicas más convenientes para predecir HBV activa crónica en pacientes HBeAg negativos. Además, se ha sugerido que, contrario a las recomendaciones de usar 2 ULN para iniciar tratamiento, utilizar 1,5 veces el ULN tiene más sensibilidad para identificar casos con moderada necro-inflamación y fibrosis significativa, por lo cual se debería iniciar el tratamiento <sup>(30)</sup>.

### ALT en infección por hepatitis C

Los valores de ALT fluctúan en la infección por HCV y pueden ocasionalmente entrar en el intervalo de referencia ; sin embargo, dado que la infección es frecuentemente asintomática, las elevaciones de ALT brindan un enfoque para realizar un estudio adicional donde se puede diagnosticar HCV. Esto sumado a la ventaja de ser efectivo en detectar enfermedad hepática en estadios tempranos, cuya sensibilidad se puede aumentar al realizar seguimiento por medio de mediciones seriadas, por lo cual es un buen marcador de tamizaje para la detección de enfermedad hepática clínicamente <sup>(1)</sup>.

En un estudio con 248 donantes de sangre asintomáticos, el 69% con resultados positivos por HCV, tuvieron valores elevados de ALT, además, el 68% de los pacientes positivos para ARN de HCV tuvieron ALT elevada, comparado con 17% de aquellos sin ARN detectable <sup>(34)</sup>. También, pacientes con daño hepático severo confirmado por biopsia, en esta cohorte, tuvieron al menos 1 determinación de ALT elevada, asimismo solamente 29% de los pacientes infectados con HCV con valores iniciales normales de ALT desarrollaron niveles elevados de ALT al hacerles el seguimiento y el 57% desarrollaría elevación de la actividad de ALT en un plazo de 5 años <sup>(34)</sup>.

Las mujeres tienden a ser los pacientes de HCV con niveles persistentemente normales de ALT (al menos 2 ALT normales en 6 meses) y a tener calificaciones más bajas de necroinflamación y fibrosis en la biopsia hepática comparadas con pacientes similares con actividad elevada de ALT. Fue encontrada fibrosis significativa en 8% – 20% de los pacientes con niveles de ALT normales comparados con un 60% de los pacientes con actividad elevada de esta enzima <sup>(35,36)</sup>.

Ruhl y colaboradores, analizaron el límite superior de ALT por su habilidad para discriminar entre personas con ARN para virus de hepatitis C positivas y aquellas con bajo riesgo de daño hepático en la población de Estados Unidos. Utilizaron a los participantes del Estudio Nacional de Salud y Nutrición de 1999 -2008; 259 individuos resultaron positivos para ARN de HCV y 3747 estaban en bajo riesgo de daño hepático (negativo para ARN de HCV y HBsAg, bajo consumo de alcohol, sin evidencia de diabetes, IMC y circunferencia de la cintura normales) <sup>(37)</sup>.

Se encontró que una clasificación máxima correcta fue lograda con un valor de ALT de 29 U/L para hombres (con 88% de sensibilidad y 83% de especificidad) y 22 U/L para mujeres (con 89% de sensibilidad y 82% de especificidad). El valor de corte para el 95% de sensibilidad fue de 24 U/L (70% de especificidad) para varones y 18 U/L para mujeres (63% de especificidad). El valor de corte para 95% de especificidad fue de 44 U/L (64% de sensibilidad) para hombres y 32 U/L (59% de sensibilidad) para mujeres <sup>(37)</sup>.

Se estableció que si se hubiera utilizado el mejor criterio de clasificación en toda la población del estudio 36.4% de los hombres y 28.3% de la mujeres tendrían valores anormales de ALT. Los investigadores, por lo tanto, concluyeron que la ALT discrimina a las personas infectadas con HCV de aquellas en bajo riesgo de enfermedad hepática, pero la enzima se consideraría elevada en gran parte de la población si se utilizara límites menores a los que se usan actualmente <sup>(37)</sup>.

Varios estudios han demostrado que un número sustancial de pacientes con hepatitis B crónica o hepatitis C crónica con niveles normales de ALT según el actual valor de referencia, y de todas formas tienen fibrosis significativa e inflamación y están en riesgo de progresión de la enfermedad hepática, especialmente aquellos con niveles normales altos de ALT (0.5 – 1 del límite superior normal). Esto puede causar subestimación de la prevalencia de la enfermedad crónica y el grado de daño en el hígado de acuerdo con los parámetros actuales <sup>(38)</sup>.

#### **Valores de referencia poblacionales determinados para la actividad de ALT**

Seok y colaboradores se dieron a la tarea de definir la significancia clínica de valores de referencia de ALT “no saludables”. Para ello, hicieron una revisión de expedientes médicos, incluyendo cuestionarios, resultados de laboratorio y test radiológicos, llevados a cabo en el Centro de Promoción de la salud en el Hospital de Universidad de Anam de Corea, entre marzo de 2005 y febrero de 2007. Los registros, escritos en forma de cuestionarios, incluyeron datos basales como estado físico, comportamiento social, historia médica e historia de enfermedades presentes y pasadas <sup>(39)</sup>.

La edad media de los 7403 pacientes fue de 48 años, 49.9% fueron varones. Concluyeron que el límite superior de intervalosaludable de ALT sérica era de 31U/L para varones y 23 U/L para mujeres, y que un nivel de referencia “no saludable”, que para varones se definió entre 31 U/L y 40 U/L y para mujeres entre 23 U/L y 40 U/L, estaba asociado con una alta prevalencia de síndrome metabólico y resistencia a la insulina <sup>(39)</sup>.

Waleed y colaboradores en el 2013 evaluaron las concentraciones de ALT en una población sana de donadores potenciales de Oriente medio con tejido normal hepático verificado por biopsia. Se excluyeron pacientes con cualquiera de las siguientes condiciones: historia de

toma de alcohol o abuso de sustancias, niveles de ALT >65 UI/L, un test positivo para HBsAg o anticuerpos contra hepatitis C, evidencia de enfermedad metabólica o autoinmune del hígado, obesidad o enfermedad cardiovascular, niveles altos de colesterol y glicemia <sup>(40)</sup>.

Los valores calculados como límites superiores de referencia para ALT, según este estudio, fueron de 33 UI/L para varones y 22 UI/L para mujeres (siendo los valores medios de ALT 19.4 UI/L en mujeres y 29 UI/L en varones), con edades medias de 27 años en hombres y 38 en mujeres. En conclusión, se recomendó que los valores en la población de Oriente Medio, deben ser disminuidos, incluyendo valores separados para hombres y mujeres <sup>(40)</sup>.

Wu y colaboradores usaron una muestra de 34346 individuos que completaron un chequeo médico completo en el Hospital General de Veterano de Taipéi, desde el año 2002 al 2009, con lo que establecieron el límite superior normal para niveles saludables de ALT utilizando el percentil 95 de la población sana de referencia. Al seleccionar un grupo de referencia sano del que excluyeron a los sujetos con cualquier otro factor de riesgo, obtuvieron como límite superior normal de ALT sérica de 21UI/L para varones y 17 UI/L para mujeres <sup>(41)</sup>.

Una población de estudio reciente excluyó personas en riesgo de hígado graso no alcohólico y encontró la necesidad de bajar los límites a 30 U/L en varones y 19 U/L en mujeres. Aunque algunos debaten que esta medida llevaría a gastos innecesarios y carga para el sistema de salud, se demostró mediante un estudio a larga escala en Corea, una alta prevalencia de hígado graso no alcohólico y una mortalidad incrementada relacionada con enfermedad hepática en adultos de mediana edad con niveles entre 20 U/L y 40 U/L comparados con aquellos con niveles de ALT menores de 20 U/L <sup>(42)</sup>.

Tanaka y colaboradores en 2014 publicaron un estudio en el cual evaluaron los niveles de ALT en 11404 japoneses, 6894 hombres y 4510 mujeres negativos para antígeno de superficie de Hepatitis B, anticuerpos contra hepatitis C y con chequeos médicos. Determinaron el índice de masa corporal, la circunferencia de cintura y como medida de consumo normal de alcohol consideraron 20 g por día <sup>(38)</sup>.

Encontraron al realizar un análisis multivariable a 3508 pacientes sanos, que el percentil 90 es de 29 IU/L para hombres y 23 IU/L en mujeres, por su parte el percentil 95 es de 36 IU/L y de 27 IU/L en mujeres. Además encontraron que los resultados de los sujetos que consumen más de 20 g por día de alcohol no difieren de aquellos que consumen menos, pero que si hay variaciones de acuerdo a la edad, principalmente en los mayores de 60 años <sup>(38)</sup>.

En 1998, en España, Lozano y colaboradores, debido a que el plasma proveniente de donadores de sangre según las regulaciones europeas y españolas debe analizarse por ALT, decidieron establecer los valores de referencia

de esta enzima en un grupo de donadores compuesto de 579 hombres y 457 mujeres, con edades entre los 18 y 65 años. Además, estudiaron la asociación de factores como género, obesidad y marcadores de infección de hepatitis viral con los niveles de ALT de su población <sup>(42)</sup>.

El valor medio obtenido fue de 25 UI/L  $\pm$  14.5 para los varones y de 16  $\pm$  7.9 para las mujeres. Con valor superior de referenciasegún la aplicación del percentil 97 de 56 UI/L en hombres y 34 UI/L en mujeres, esto dejó claro el hecho de que se deben considerar diferentes valores de corte según géneros. Además, concluyeron que factores como la obesidad pueden explicar más del 50 % de los casos con valores incrementados de ALT, indicando baja especificidad del test <sup>(42)</sup>.

En el 2005, María Pendino y colaboradores decidieron estudiar los niveles de ALT en una región del Sur de Italia, justificando su investigación en que, para el sur de Italia, así como en otras áreas de países mediterráneos, los hábitos alimenticios varían de aquellos de los países industrializados y se carece de datos relevantes de daño al hígado inducido por alcohol y esteatosis hepática no alcohólica, además, se mostró que la prevalencia de infección crónica de hepatitis C es mayor en el sur que en el norte de Italia. El estudio se llevó a cabo desde julio de 2002 y julio de 2003 en Cittanova, tomando una muestra de la población general de al menos 12 años de edad seleccionada de la lista del censo, utilizando como control individuos con resultados dentro de los intervalos de referencia en el primer tamizaje de pruebas de función hepática (AST, ALT y GGT) <sup>(3)</sup>.

Como resultado se obtuvo que el sexo masculino, tener un IMC  $>25$  y tener un consumo de alcohol  $>28$  g/dL de alcohol son factores predictores independientes de anormalidad persistente de las pruebas de función hepática. El conocer la prevalencia estimada y etiología de las pruebas de función hepática anormales puede ser útil para implementar estrategias para reducir la carga potencial de la enfermedad crónica hepática <sup>(3)</sup>.

En Chile, la aplicación de la segunda Encuesta Nacional de Salud (ENS) por parte del Ministerio de Salud (MINSAL) en el año 2009 permitió realizar determinaciones de ALT en una muestra representativa de esta población. Tejos y colaboradores reportaron en el 2013 los resultados de la determinación de ALT en población chilena y analizaron las variables asociadas a niveles anormales de esta enzima, resaltan el hecho de que la definición de niveles de anormalidad de la ALT, es en la actualidad un tema en revisión ya que, dada la creciente incidencia de obesidad y sobrepeso tanto en Chile como en el mundo, la distribución de los ALT en la población aparentemente sana usada como referencia ha cambiado <sup>(6)</sup>.

El grupo de población chilena estudiada en la ENS corresponde a una muestra aleatoria de 5412 personas, representativa de la población general, de ambos géneros, de residencia rural y urbana, mayor de 15 años, de todo el país. Para el análisis de prevalencia de ALT anormal

y factores asociados a esta condición se utilizó una submuestra aleatoria de los sujetos seleccionados en la ENS 2009-2010; en este subgrupo (n = 2 794) se determinaron los niveles séricos de ALT y gamma glutamil transpeptidasa (GGT). Dichas determinaciones, así como la medición de las concentraciones séricas de glucosa en ayunas, colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos, fueron realizadas en un analizador automatizado <sup>(6)</sup>.

Los valores promedio observados para los niveles séricos de ALT fueron 30,14  $\pm$  0,99 UI/L en hombres y 22,03  $\pm$  0,63 UI/L en mujeres. Los valores promedio de GGT observados fueron 36,5  $\pm$  1,73 UI/L en hombres y 25,4  $\pm$  1,13 UI/L en mujeres. Al estimar la prevalencia de niveles anormales de ALT en el suero en la población chilena, se observaron diferencias significativas dependiendo de cuál de los diferentes puntos de corte se utilizó para el análisis. Así, la prevalencia de ALT anormales alcanzó 38% si se utilizan los puntos de corte definidos por Prati y colaboradores, fue de 11,5% si se emplean los valores de referencia predefinidos por el laboratorio clínico donde se realizaron las determinaciones y fue de 8,1% si se siguiera la recomendación de niveles normales de ALT propuesta por Piton y colaboradores, que considera límites normales variables según el IMC <sup>(6)</sup>.

Respecto de la etiología de la elevación de los ALT en este estudio, la asociación con parámetros de corte metabólico sugiere que el hígado graso, relacionado con la obesidad y resistencia insulínica, es una de las entidades más posiblemente relacionadas a dicha alteración de laboratorio. La prevalencia observada de infecciones por virus hepatotrópicos en la ENS 2009 fue muy baja ( $< 1\%$ ) por lo que dicha etiología no sería un contribuyente relevante <sup>(6)</sup>.

Por otra parte, el consumo de alcohol, a pesar de ser relevante en la población estudiada, no exhibe una asociación con la anormalidad de los ALT en el análisis multivariado. Un factor que puede haber contribuido a esta observación es que la mayor parte de los chilenos bebe en forma intermitente y excesiva, por lo que la alteración de ALT se asocia predominantemente al consumo regular de más de dos unidades por día, además el consumo de alcohol puede también contribuir directamente al desarrollo de alteraciones metabólicas, como la obesidad y la hipertrigliceridemia <sup>(6)</sup>.

Debido a que diariamente en los laboratorios a nivel mundial se realiza un gran número de mediciones de la actividad de ALT, la estandarización de estas mediciones es una necesidad prioritaria para el cuidado del paciente. El enfoque del sistema de referencia, basado en conceptos de trazabilidad metrológica y la jerarquía de los procedimientos de medición analíticos, da a los laboratorios clínicos y la comunidad médica universal medios para crear y asegurar la comparabilidad de los resultados <sup>(43)</sup>.

Los procedimientos primarios para la medición de la concentración de actividad catalítica de ALT a 37°C se

encuentran publicados <sup>(43)</sup>. Los valores asignados a los calibradores de las casas comerciales y de los resultados de medición de niveles metrológicos inferiores, incluyendo aquellos usados en la rutina diaria, deben ser trazables a estos procedimientos de referencia de alto nivel, mejorando la exactitud y comparabilidad de los resultados obtenidos para la enzima <sup>(44, 45)</sup>.

La actividad de ALT sérica puede estar afectada por otros factores diferentes a enfermedad hepática, como género, con valores más altos en hombres que en mujeres, índice de masa corporal (IMC) y nivel de triglicéridos <sup>(9, 16)</sup>. En el caso del nivel de colesterol y consumo de alcohol entre varones tienen una correlación positiva con la actividad de ALT, mientras que el fumado, la actividad física y la edad tienen una correlación negativa; en mujeres los niveles de glucosa tienen una correlación positiva y el uso de anticonceptivos da una tendencia a valores más bajos <sup>(1, 46)</sup>.

Las causas de pruebas hepáticas anormales pueden variar en diferentes áreas geográficas. Después de excluir causas conocidas mediante métodos no invasivos, se encontró una gran proporción de individuos con pruebas de función hepática de origen indeterminado, que se sospecha que sean de esteatosis hepática no alcohólica, que está asociada con necroinflamación y fibrosis, y puede progresar a cirrosis y carcinoma hepatocelular y en conjunto con la hepatitis crónica viral y el alcohol, es considerada una de las causas más importantes de daño hepático en países industrializados. Las diferencias geográficas en la prevalencia reflejan las diferencias en cuanto a hábitos dietéticos y la prevalencia de la obesidad, la cual es uno de los principales factores asociados con el hígado graso no alcohólico. En Citanova, el alcohol, VHC y el hígado graso no alcohólico son las principales causas de anormalidad de las enzimas hepáticas mientras que en el Estados Unidos la causa principal es el hígado graso <sup>(3)</sup>.

Por razones técnicas relacionadas con la estabilidad de la muestra, no se utilizan estándares validados para establecer un límite superior referencia para ALT, por lo tanto se utilizan poblaciones de referencia localmente definidas cuyos criterios de inclusión o exclusión se deben al valor que se le da a la prueba para identificar la presencia de la enfermedad. Asimismo, a medida que la obesidad aumenta en la población general, las poblaciones de referencia pueden en forma creciente incluir individuos con hígado graso no alcohólico, lo cual llevaría el límite superior de referencia a niveles inapropiadamente altos. <sup>(1, 6)</sup>

Entre los aspectos que aún quedan pendientes de investigar se encuentra la edad en la que es apropiado el análisis exhaustivo para optimizar el desempeño de la prueba, esto porque generalmente en la actualidad el diagnóstico se da cerca de la quinta década de vida. Además, no se han realizado estudios que indiquen el riesgo-beneficio y el costo-efectividad de realizar

un diagnóstico presuntivo con esta prueba, ya que se debe balancear el impacto económico de realizar los estudios adicionales eventualmente innecesarios en una proporción significativa de la población <sup>(1, 6)</sup>.

## Referencias:

- Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, Bodenheimer HC. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology* 2008; 47: 1363–70.
- Kim HC, Nam CM, Jee SH, Han KH, Oh DK, Suh I: Normal serum aminotransferase concentration and risk of mortality from liver diseases: prospective cohort study. *BMJ* 2004, 328:983.
- Pendino GM, Mariano A, Surace P, Caserta CA, Fiorillo MT, Amante A, et. al. Prevalence and Etiology of Altered Liver Tests: A Population-Based Survey in a Mediterranean Town. *HEPATOLOGY*, Mayo 2005; 41(5):1151-9.
- Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med.* 2000; 342:1266–1271.
- Kaplan MM. Alanine aminotransferase levels. What's normal? *Ann Intern Med.* 2002; 137:49–51.
- Tejos R, Padilla O, Pizarro M, Solís N, Arab J, Margozzini P, et.al. Serum levels of alanine aminotransferase in Chilean population: analysis of results of the national health survey 2009-2010. *Revista Médica de Chile.* 2013; 141:909-916.
- Lazo M, Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective. *Semin Liver Dis.* 2008; 28:339–350.
- Amarapurkar DN, Hashimoto E, Lesmana LA, et al. How common is non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region and are there local differences? *J Gastroenterol Hepatol.* 2007; 22:788–793.
- Prati D, Taioli E, Zanella A, Della Torre E, Butelli S, Del Vecchio E, et al. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med.* 2002; 137:1-10.
- Sanai FM, Helmy A, Dale C, et al. Updated thresholds for alanine aminotransferase do not exclude significant histological disease in chronic hepatitis C. *Liver Int.* 2011;31:1039–1046.
- Keeffe EB, Dieterich DT, Han SH, et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the Receiver-operating characteristic curves of sensitivity (true-positive fraction) plotted against 1-specificity (false-positive fraction) in donors who were positive for macrosteatosis. a Male donors. b Female donors. United States: 2008 update. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008; 6: 1315–1341.
- El-Seraq H, Richardson P, Everhart J: The role of diabetes in hepatocellular carcinoma. *American Journal of Gastroenterology.* 2001; 8; 2462-7.
- Hanley AJ, Williams K, Festa A, Wagenknecht LE, D'Agostino RB, Jr., Haffner SM. Liver markers and development of the metabolic syndrome: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2005; 54: 3140-3147.
- Ioannou G, Weiss N, Boyko E, Mozaffarian D. Elevated serum alanine aminotransferase activity and calculated risk of coronary heart disease in the United States. *HEPATOLOGY* 2006; 43:1145-1151.

15. Siddiqui MS, Sterling RK, Luketic VA, Puri P, Stravitz RT, Bouneva I, et al. Association between High-normal levels of alanine aminotransferase and risk factors for atherogenesis. *Gastroenterology*. 2013; 145: 1271-1279.
16. Mohamadnejad M, Pourshams A, Malekzadeh R, Mohamadkhani A, Rajabiani A, Asgari AA, et al. Healthy ranges of serum alanine aminotransferase levels in Iranian blood donors. *World J Gastroenterol* 2003; 9(10):2322-2324.
17. Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. *JAMA* 2004; 291:2847-2850.
18. Bray GA, Bellanger T. Epidemiology, trends, and morbidities of obesity and the metabolic syndrome. *Endocrine* 2006; 29:109-117.
19. Herner A, Avizohar O, Sella R, Bartha P, Zinder O, Markiewicz W, et al. Association between elevated liver enzymes and C-reactive protein: possible hepatic contribution to systemic inflammation in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25:193-197.
20. Kunde A, Lezenby A, Clements R. Spectrum of NAFLD and diagnostic implications of the proposed new normal range for serum ALT in obese women. *HEPATOLOGY*. 2005; 42:650-656.
21. Reid A. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001; 121:710-723.
22. Bottero, J. Bottero J, Lacombe K, Guechot, J, Serfaty L, Miaillhes P, Bonnard P, et al. Performance of 11 biomarkers for liver fibrosis assessment in HIV/HBV co-infected patients. *Journal of Hepatology*. 2009; 50: 1074-1083.
23. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Loscalzo J. Sección 2 Enfermedades del hígado y vías biliares. En: *Harrison Principios de Medicina Interna*. 18 Edición. Mc Graw Hill Education. Versión en línea. 2012.
24. Ono-Nita SK, Carrilho J, Cardoso R, Nita M, Da Silva LC. Searching for chronic hepatitis B patients in a low prevalence area—role of racial origin. *BMC Fam Pract* 2004; 5:7.
25. Narahari S, Juwle A, Basak S, Saranath D. Prevalence and geographic distribution of Hepatitis C Virus genotypes in Indian patient cohort. *Infect Genet Evol* 2009; 9:643-645.
26. Chao DT, Lim JK, Ayoub WS, Nguyen LH, Nguyen MH. Systematic review with meta-analysis: the proportion of chronic hepatitis B patients with normal alanine transaminase  $\leq 40$  IU/L and significant hepatic fibrosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014; 39: 349–358
27. Ijaz B, Ahmad W, Javed FT, Gull S, Hassan S. Revised cutoff values of ALT and HBV DNA level can better differentiate HBeAg (-) chronic inactive HBV patients from active carriers. *Virology Journal* 2011, 8:86
28. Kelleher TB, Afdhal N. Assessment of liver fibrosis in co-infected patients. *J Hepato* 2006, 44:S126-S131.
29. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol*. 2008, 48: 335-352.
30. Shahinul A, Golam A, Golam M, Abul KA, Izazul H, Shakil G, et al. Natural course of fulminant hepatic failure: the scenario in Bangladesh and the differences from the west. *Saudi Journal of gastroenterology*. 2009, 15 (4): 229
31. Kim HJ, Oh SW, Kim DJ, Choi EY: Abundance of immunologically active alanine aminotransferase in sera of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma patients. *Clin Chem*. 2009; 55:1022-1025.
32. Assy N, Beniashvili Z, Djibre A, Nasser G, Grosovski M, Nseir W: Lower baseline ALT cut-off values and HBV DNA levels better differentiate HBeAg- chronic hepatitis B patients from inactive chronic carriers. *World J Gastroenterol* 2009, 15:3025-3031.
33. Yuen MF, Yuan HJ, Wong DK, Yuen JC, Wong WM, Chan AO, Wong BC, *Lancet*. 2003 Dec 20; 362(9401):2089-94
34. Okanoue T, Makiyama A, Nakayama M, Sumida Y, Mitsuyoshi H, Makajima T, et al. A follow-up study to determine the value of liver biopsy and need for antiviral therapy for hepatitis C virus carriers with persistently normal serum aminotransferase. *J Hepatol*. 2005; 43:599-605.
35. Nutt AK, Hassan HA, Lindsey J, Lamps LW, Raufman JP. Liver biopsy in the evaluation of patients with chronic hepatitis C who have repeatedly normal or near-normal serum alanine aminotransferase levels. *Am J Med*. 2000; 109:62-64.
36. Kyrlagkitsis I, Portmann B, Smith H, O'Grady J, Cramp M. Liver histology and progression of fibrosis in individuals with chronic hepatitis C and persistently normal ALT. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1588-1593.
37. Ruhl CE, Everhart JE. Upper Limits of Normal for Alanine Aminotransferase Activity in the United States Population. *Hepatology*. 2012; 55(2): 447–454.
38. Tanaka K, Hyogo H, Ono M, Takahashi H, Kitajima Y, Ono N, et al. Upper limit of normal serum alanine aminotransferase levels in Japanese subjects. *Hepatol res*. 2014; 44 (12): 1196-207.
39. Kang HS, Um SH, Seo YS, An H, Lee KG, Hyun JJ, et al. Healthy range for serum ALT and the clinical significance of “unhealthy” normal ALT levels in the Korean population. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 26. 2011; 292–299.
40. Al-hamoudi W, Ali S, Hegab B, Elsiey H, Hashim A, Al-Sofayan M, et al. Revising the Upper Limit of Normal for Levels of Serum Alanine Aminotransferase in a Middle Eastern Population with Normal Liver Histology. *Dig Dis Sci* (2013) 58:2369–2375
41. Wu, WC. Updated thresholds for serum alanine aminotransferase level in a large-scale population study composed of 34 346 subjects. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 36: 560–568.
42. Lozano M, Cid J, Bedini JL, Mazzara R, et al. Study of serum alanine aminotransferase levels in blood donors in Spain. *Haematologica*. 1998; 83:237–239.
43. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G, Ferrero CA, Franck PFH, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 4. Reference procedure for the measurement of

catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med. 2002; 40:718-24.

44. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders Inc, 2012.

45. McPherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management. 22th ed. Elsevier Saunders Inc, 2011.

46. Piton A, Poynard T, Imbert-Bismut F, Khalil L, Delattre J, Pelissier E, et al. Factors associated with serum alanine transaminase activity in healthy subjects: consequences for the definition of normal values, for selection of blood donors, and for patients with chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. HEPATOLOGY. 1998; 27:1213-1219.

## Rinosinusitis fúngica: expectativas diagnósticas de esta micosis

### Fungal rhinosinusitis: diagnostic expectations of this mycosis

Allan Ignacio Valverde-Vindas<sup>I</sup>, Greivin Rodríguez-Rojas<sup>II</sup>

#### Resumen:

La rinosinusitis fúngica es una entidad inflamatoria aguda que involucra los senos paranasales rápidamente y que puede estar dada por múltiples géneros de hongos saprófitos (*Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Schizophyllum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Candida*) que se comportan como patógenos primarios u oportunistas respondiendo a diversos factores predisponentes, involucrando poblaciones pediátricas y adultas. Dadas las complicaciones asociadas a esta entidad y conociendo la multiplicidad de diagnósticos diferenciales es imprescindible contar con una sospecha clínica y la confirmación precoz por parte de los laboratorios de microbiología y patología, así como las imágenes médicas que van a dirigir las decisiones clínicas asociadas a los distintos esquemas terapéuticos.

Se presenta un caso de rinosinusitis fúngica mixta en una mujer de 36 años de edad.

**Palabras clave:** *Aspergillus*, sinusitis, infección fúngica, histopatología, laboratorio

#### Abstract:

Fungal rhinosinusitis is an acute inflammatory entity that rapidly compromises the paranasal sinuses. It can be caused by multiple genera of saprophytic fungi (*Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Schizophyllum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Candida*) that behave as primary or opportunistic pathogens to various predisposing factors, involving pediatric and adult populations. Given the complications associated with this entity and knowing the multiplicity of differential diagnoses it is essential to have a clinical suspicion and early confirmation by the laboratories of Microbiology and Pathology, as well as the medical images that will direct the clinical decisions associated with the different therapeutic schemes.

Here we present a case of a mixed fungal rhinosinusitis in a 36-year-old woman.

**Key words:** *Aspergillus*, sinusitis, fungal infection, histopathology, laboratory

Recibido el 09/12/2016, aceptado para su publicación el 06/02/2017

I. Jefe sección Micología Médica, Laboratorios LABIN SA

II. Médico especialista en Anatomía Patológica, CCSS

Correspondencia: greivinrr@gmail.com

## Introducción

**S**inusitis es el término que representa la inflamación de la mucosa de los senos paranasales (frontales, etmoidales, maxilares o esfénoidales). El término “rinosinusitis” se ha vuelto un común reemplazo del término “sinusitis” debido a la naturaleza de contigüidad de la mucosa de los senos nasales y paranasales, así como sus interacciones en múltiples procesos inflamatorios <sup>(1)</sup>.

La sinusitis fúngica consiste en la inflamación de la mucosa de los senos paranasales por parte de agentes etiológicos de origen micótico, asociada más frecuentemente a individuos atópicos quienes desarrollan una sinusitis intratable y poliposis nasal <sup>(2)</sup>.

Tradicionalmente este tipo de cuadros se caracterizan por la presencia de rinorrea purulenta, obstrucción nasal, dolor facial, eritema y edema local en las zonas sinusales, fiebre, tos, fatiga, hiposmia o anosmia, dolor dental maxilar y plenitud ótica <sup>(3)</sup>.

En años recientes ha habido un incremento en los reportes de invasión fúngica acompañada de sinusitis lo cual es un importante problema de salud pública que representa una elevada carga económica a la sociedad. Se estima que la rinosinusitis aguda o crónica ocurre en el 20% de la población en algún momento de la vida <sup>(4)</sup>, y ha sido asociada a distintos factores como la diabetes, terapia esteroidea e inmunosupresión entre otros. Además, la significativa morbilidad y mortalidad en pacientes pediátricos asociada a esta condición y la velocidad de su progresión hace que su diagnóstico y tratamiento precoz sean cruciales <sup>(5)</sup>. Afortunadamente la sospecha clínica más frecuente y las mejoras en los métodos diagnósticos de laboratorio, patología e imágenes médicas permiten detectar y diagnosticar estas infecciones con mayor frecuencia <sup>(6)</sup>. A menudo esta entidad es difícil de distinguir de una simple rinosinusitis bacteriana, vírica o de una inflamación sinusal de causa alérgica y a su vez, estos procesos son importantes predisponentes para la aparición de una infección fúngica de los senos paranasales.

Las sinusitis fúngicas se han clasificado en cuatro categorías histológicas mayores que son: 1) Alérgica, 2) Crónica no invasiva, 3) Crónica invasiva y 4) Aguda fulminante. Esta clasificación es importante porque el pronóstico y tratamiento varía entre los diagnósticos de sinusitis fúngica, pues aunque la presentación clínica puede proveer pistas diagnósticas para cada categoría, sólo el examen cuidadoso del tejido puede proveer una adecuada clasificación <sup>(4)</sup>.

Debido a estas razones, la sospecha clínica y el diagnóstico precoz son imprescindibles para la toma de decisiones médicas y la implementación de un esquema terapéutico adecuado y oportuno que resuelva el cuadro y prevenga las posibles complicaciones como compromiso ocular,

síndrome de micosis sinobronquial alérgica, trombosis de los senos cavernosos, por mencionar algunas <sup>(3)</sup>.

## Presentación del caso

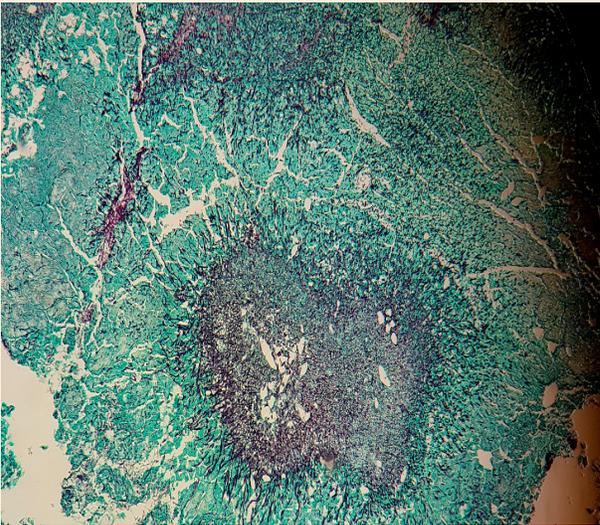
Femenina de 36 años de edad, quien consulta a emergencias con edema en la región cigomático malar (maxilo-etmoidal derecho), eritema, calor y cornetes hipertróficos, descarga nasal hialina amarillenta con obstrucción nasal y desviación septal derecha que inició como prurito intrapalpebral.

La paciente refiere previo buen estado general, niega alergias y visión borrosa, tabaquismo de medio paquete diario por 4 años y bebedora ocasional. Únicamente refiere un episodio de parálisis facial 14 años previos.

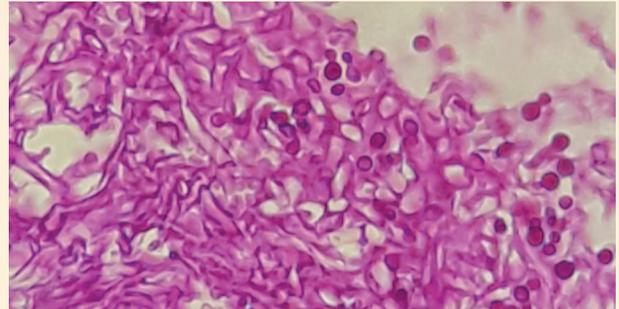
Se le prescribe empíricamente un ciclo de amoxicilina (500mg/18hrs/IV) y se egresa. Veinte días después vuelve a consultar en el servicio pues persiste con sintomatología. Se descarta sepsis dental, déficit neurológico y se evidencia parálisis facial derecha de manera que se aplica suero fisiológico, tramadol y dexamentasona intravenosos y se solicita internamiento con monitoreo de signos vitales, dieta líquida y exámenes de gabinete (sólo evidencian leucocitosis y leve elevación de alanino aminotransferasa) y se prescribe clindamicina (600mg/IV/cada 6hr/por 10 días), oximetazolina y pseudoefedrina. Se solicita realizar una tomografía axial computarizada (TAC) la cual se muestra sin evidencia de absceso subperióstico ni orbitario. Se solicita una endoscopia nasal en la cual se documenta aspirado de secreción activa en cornete medio y se describe material blanquecino-grisáceo, fétido, pastoso que ocupa todo el piso y porción posterior de la fosa nasal al punto de ocluir coana. Se decide cultivar por hongos, bacterias y micobacterias, sin embargo únicamente se cultiva por bacterias resultando negativo. Se prescribe irrigaciones nasales cada 2 horas posterior al procedimiento alternando suero fisiológico y suero fisiológico con gentamicina. Una de las muestras obtenidas por aspiración se envía al servicio de Patología para realizar tinciones. Posteriormente la paciente se egresó con fluconazol (1 dosis diaria por un mes) en espera del resultado de la biopsia. Se da cita de control dentro de 10 días.

A la muestra enviada a patología se le realizan varios cortes para teñir con tinciones clásicas y especiales de hematoxilina y eosina (H&E), ácido peryódico de Schiff (PAS) y plata-metanamina de Grocott), en las cuales se logró apreciar una mola amorfa conformada por abundante infiltrado inflamatorio rico en células polimorfonucleares (neutrófilos), mucina y presencia de múltiples estructuras fúngicas apreciables en todos los cortes, las cuales evidenciaron la presencia de un agente etiológico de origen fúngico. Se procedió a estudiar a detalle la morfología fúngica y se detallaron distintas características a considerar (ver figuras 1-6):

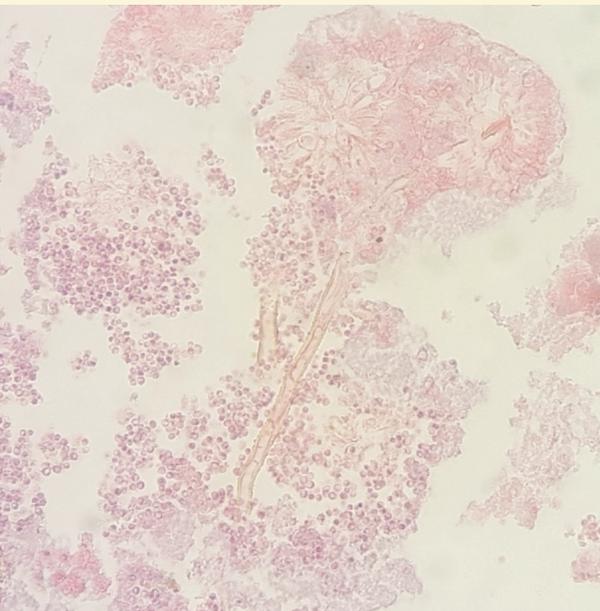
1. Bolas fúngicas o fungomas.
2. Presencia de micelio septado.
3. Hifas con ramificaciones en ángulo de 45° y direccionalidad.
4. Presencia de hifas con pigmento melánico.
5. Presencia de hifas con equinulaciones.
6. Presencia de esporas tipo conidia (sin gemación) con pigmento melánico.
7. Presencia de estructuras fructíferas o fértiles tipo conidióforo complejo, con pigmento y fiálides de conformación biseriada.
8. Presencia de blastosporas unigemantes de 2-4µm de diámetro, con base de implantación angosta.
9. Presencia de hifas gruesas de diámetro irregular, algunas con ramificaciones en ángulo de 90° y sin direccionalidad en su disposición en el tejido.



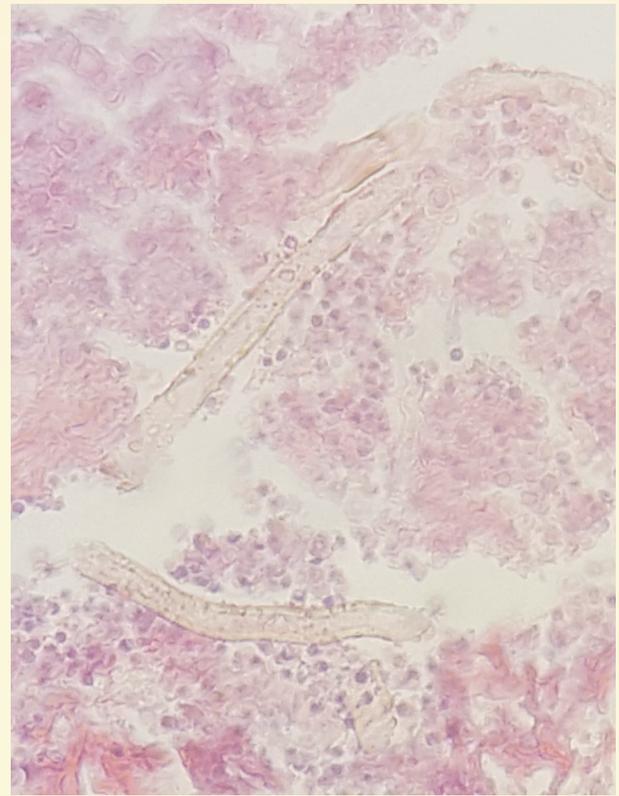
**Figura 1.** Bola fúngica. Tinción de Grocott 4X



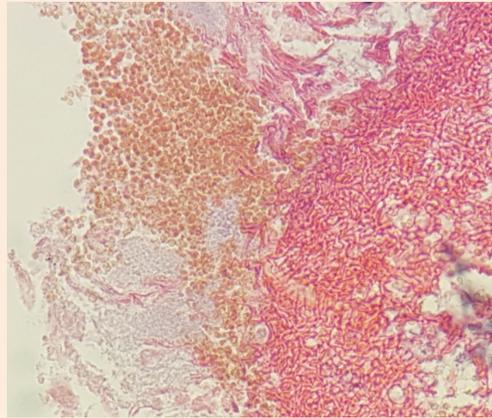
**Figura 3.** Blastosporas unigemantes y micelio. Tinción de PAS 40X.



**Figura 2.** Conidióforos con vesículas globosas totalmente fértiles que producen fiálides biseriadas. Tinción H&E 40X.



**Figura 4.** Detalle de fragmento de la hifa donde se aprecian equinulaciones. Tinción H&E 40X.

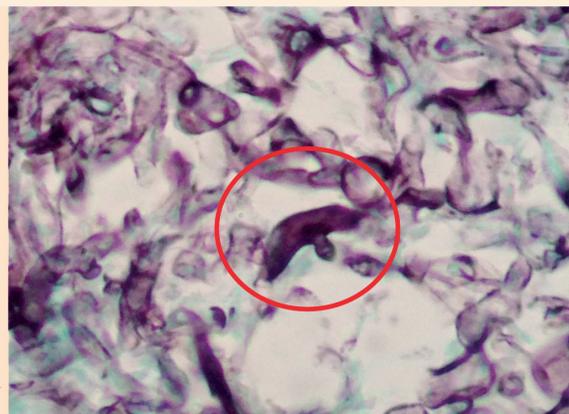


**Figura 5.** Detalle de conidias con pigmento. Tinción H&E 40X.

**Figura 6.** a) Detalle hifa ramificada en ángulo de 45°, grupo de hifas con direccionalidad y diámetro uniforme. b) Detalle de hifa ramificada en ángulo recto, grupo de hifas sin direccionalidad (desordenadas) y diámetro irregular (con ensanchamientos y adelgazamientos en su longitud). Tinción de Grocott 40X



a. b.



Se recibe a la paciente y se modifica la dosis de fluconazol a 400mg por semana por 4 semanas con cetirizina y pseudoefedrina y se solicita cita 10 días postratamiento. Se confirma mejoría del cuadro y se egresa definitivamente.

## Discusión

En 1983, Katzenstein y colaboradores describen la sinusitis alérgica por *Aspergillus* spp. como una nueva forma reconocida de sinusitis. El diagnóstico fue realizado basándose en la tríada histopatológica: conglomerados o capas de eosinófilos necróticos, cristales de Charcot-Leyden (de la degradación de los eosinófilos) e hifas no invasivas con morfología consistente con *Aspergillus* spp. en la mucosa nasal <sup>(7)</sup>.

El diagnóstico clínico está basado en los siguientes criterios claramente definidos:

1. La presentación de una clínica de infección respiratoria de 7 días de duración.
2. La presencia de dos o más de los siguientes signos: exudado nasal purulento, pobre respuesta a los descongestionantes, dolor facial o en zonas sinusales que se agrava con cambios posturales o Valsalva, cefalea, fiebre, antecedentes personales de sinusitis,

dolor dental, alteraciones anatómicas (poliposis nasal, desviación septal, etc) <sup>(8)</sup>.

Se ha descrito que el mecanismo fisiopatológico mediante el cual se instaura una sinusitis fúngica es debido a tres factores fundamentales como son la obstrucción del orificio de salida del seno (alteraciones anatómicas, poliposis nasal), la reducción del aclaramiento ciliar y el aumento de la viscosidad de las secreciones (fibrosis quística por ejemplo) <sup>(9)</sup>.

La tomografía axial computarizada se realizaría sólo ante la sospecha de complicaciones. La transluminación de los senos depende en gran medida de la pericia del explorador. Realmente el mejor sistema de diagnóstico sería la aspiración antral, pero no se realiza de forma rutinaria en la práctica clínica por ser muy cruenta.

En los casos que presenten complicaciones, que no obtenga una buena respuesta al tratamiento o en pacientes inmunosuprimidos, una buena alternativa sería la realización de una aspiración del seno maxilar vía transnasal <sup>(9)</sup>.

En cuanto al diagnóstico, no se debe obviar la importancia de las observaciones histopatológicas. Entre ellas, un hallazgo histopatológico usual reportado en la literatura

es la llamada “mucina alérgica” que se caracteriza por presentar grumos de eosinófilos necróticos y otros debris celulares en un contexto de mucina amorfa pálida eosinofílica-basofílica<sup>(10, 11)</sup>. En este caso no se confirmó la presencia de eosinófilos en las tinciones pero si se observó presencia de mucina abundante.

También es de vital importancia valorar las características morfológicas microscópicas de las estructuras fúngicas encontradas con el fin orientar el diagnóstico hacia algún agente fúngico sospechoso.

Existen especies que cohabitan estos espacios existiendo la posibilidad de crear infecciones mixtas. Este hecho no sería un problema si todos los hongos respondieran de igual forma a los tratamientos, pero dado que hay especies resistentes, se hace imprescindible confirmar o descartar por medio de un cultivo la presencia de uno o más agentes y definir los géneros involucrados para orientar al profesional clínico en las decisiones terapéuticas subsecuentes.

Al día de hoy se ha reportado gran cantidad de especies de hongos aisladas de secreciones, biopsias, lavados y aspirados de senos paranasales. Entre ellos se encuentra los géneros *Acremonium*, *Alternaria*, *Arachniotus*, *Arthrographis*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Bipolaris*, *Candida*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Cryptococcus*, *Cunninghamella*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gliomastix*, *Mucor*, *Nigrospora*, *Oidiodendron*, *Paecilomyces*, *Papularia*, *Penicillium*, *Phoma*, *Pithomyces*, *Pseudallescheria*, *Rhinocladia*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Sagrahamala*, *Schizophyllum*, *Scolecobasidium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Trichosporon* y *Ustilago*<sup>(4, 5, 7, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21)</sup>.

En correspondencia con los hallazgos obtenidos por medio de la histopatología en este caso clínico se hace necesario recordar que el material para cultivo por hongos es sumamente delicado ya que las estructuras parasitarias son lábiles a las condiciones de temperatura (de 25 a 30 grados como temperatura óptima), pH, sustancias químicas (nunca deben ser remitidos al laboratorio en formalina) y vulnerables a la contaminación con hongos ambientales cuyos géneros se encuentran en su mayoría asociados a esta patología. Las muestras de biopsias o secreciones respiratorias destinadas para cultivo se deben enviar al laboratorio lo más pronto posible, y ser procesadas de inmediato. Se puede mantener en refrigeración a 4°C, aunque algunos hongos del grupo Mucorales son particularmente sensibles a las bajas temperaturas, provocando que se inhiba su crecimiento. Las muestras se reciben únicamente en un frasco con tapa de rosca, tubo de ensayo con solución salina o jeringa estéril. En caso de ser tejidos debe de fragmentarse con un bisturí en porciones muy pequeñas (nunca macerar con mortero), para estudios microscópicos en KOH al 10-20% o blanco de calcoflúor y cultivar en Sabouraud glucosado (imprescindible, puesto que muchos hongos

de los géneros citados anteriormente son sensibles a la cicloheximida) y con cicloheximida como Mycosel®. Las secreciones respiratorias por lavado o aspiración nunca deben ser tratados con el protocolo para micobacterias pues la mayoría de los hongos son susceptibles al NaOH al 2%, en su lugar se siembra directamente al menos 0.5mL de cualquier secreción. En caso de los lavados es recomendable centrifugarlos primero a 1000 rpm por 15 minutos y cultivar el sedimento en los medios de rutina y agar sangre. Las muestras muy viscosas pueden ser mezcladas primero en caldo nutritivo antes de cultivarse para mejorar la recuperación<sup>(22)</sup>.

### Pronóstico:

Generalmente las sinusitis son condiciones de buen pronóstico, con un tiempo estimado de recuperación de 7 días y que en general no requieren incapacidad, siempre que se haga un diagnóstico oportuno y se asigne un esquema terapéutico adecuado según el agente causal.

En los casos como el que se presenta, en que el diagnóstico se retarda y el tratamiento empírico es inadecuado puede llevar a serias complicaciones como cambios visuales, perforación timpánica, trombosis cavernosa profunda y expansión de la mucina alérgica dentro del cerebro, aunque ciertamente estos casos son esporádicos<sup>(2)</sup>. Sin embargo, existen diferencias sustanciales en cuanto a la resistencia a los tratamientos antifúngicos por parte de ciertos agentes etiológicos, tal es el caso de *Aspergillus* en el cual el tratamiento de elección debería ser voriconazol y no fluconazol como fue prescrito a la paciente que se reporta. De igual forma hongos tipo Mucorales como *Rhizopus*, *Mucor*, *Rhizomucor* o *Cunninghamella* son resistentes incluso al voriconazol, razón por la cual se recomienda el tratamiento con posaconazol. En caso de no contar con dicho medicamento, como sucede en nuestro país, se debe optar por otras opciones sistémicas como anfotericina B en alguna de sus presentaciones (deocolato, liposomal o lipídica)<sup>(5, 17, 23, 24)</sup>.

### Conclusión

La rinosinusitis fúngica es una entidad que debe ser considerada con precaución debido a la multiplicidad de agentes etiológicos que pueden estar involucrados en la misma y la posibilidad de que haya coinfecciones ya sea con bacterias, levaduras u otros hongos filamentosos.

Para lograr una resolución definitiva se debe seleccionar una terapia antifúngica adecuada dependiendo del agente etiológico asociado. En este sentido se hace imprescindible la realización de un diagnóstico temprano combinando la sospecha y exploración clínica con las técnicas tintoriales del laboratorio de patología, las imágenes médicas y el laboratorio de microbiología del cual se pueda recuperar el o los agentes involucrados por medio del cultivo. Los resultados obtenidos permiten ejecutar las modificaciones terapéuticas adecuadas para asegurar la regresión del cuadro y la pronta recuperación

del paciente, evitando las complicaciones de la infección y posibles efectos secundarios asociados a la terapéutica antifúngica (hepatotoxicidad y nefrotoxicidad entre otros).

## Referencias

- Schubert M. Allergic fungal sinusitis: pathophysiology, diagnosis and management. *Med Mycol.* 2009, 47, S324-S330.
- Bozeman S, deShazo R, Stringer S, Wright. Complications of allergic fungal sinusitis. *Am J Med.* 2011, 124, 359- 368.
- American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery Foundation. Clinical practice guideline: Adult sinusitis 2007. Acceso el 06 de noviembre del 2016. <http://www.entlink.net/qualityimprovement/upload/Adult%20Sinusitis%20Guideline.pdf>
- Granville L, Chirala M, Cernoch P, Ostrowsky M, Truong L. Fungal sinusitis: histologic spectrum and correlation with culture. *Hum Pathol.* 2004, 35, 474-481.
- Egan K, Robbins E, Weintrub P, Chin C, Rosbe K. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006, 1, 123-127
- Czeczior E, Gawlik R, Jarzab J, Mrówka-kata K, Sowa P, Iwanska J. The presence of fungal floras in sinuses in chronic sinusitis patients with polyps. *Otolaryngol Pol.* 2012, 66, 259-261.
- Ponikau J, Sherris D, Kern E, Homburger H, Frigas E, Gaffey T, Roberts G. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clin Proc.* 1999, 74, 877-884.
- deShazo R, Swain R. Diagnostic criteria for allergic fungal sinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1995, 96, 24-35.
- Martínez M, Torralba M, Láinez S, Rodríguez M. Protocolo diagnóstico y terapéutico de la sinusitis aguda. *Medicine.* 2010,10, 3870-3872.
- Katzenstein A, Sale S, Greenberg P. Allergic *Aspergillus* sinusitis: a newly recognized form of sinusitis. *Clin Immunol.* 1983, 72, 89-93.
- Heffner, D. Allergic fungal sinusitis is a histopathologic diagnosis: paranasal mucocele is not. *Ann Diagn Pathol.* 2004, 8, 316-323.
- Hibbett D, Binder M, Bischoff J, Blackwell M, Cannon P, Eriksson O, Huhndorff S, et al. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Microbiol Res.* 2007, 3, 509-547.
- Bonifaz A. *Micología médica básica.* 4a Edición. McGrawHill. México DF. 2012, 583pp.
- Arenas R. *Micología médica ilustrada.* 4a Edición. McGrawHill. México DF. 2011, 417pp.
- Wickern G. Fusarium allergic fungal sinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1993, 92, 624-625.
- Yariktas M, Demirci M, Doner F, Tuz M, Aynali G. (2007). Microbiologic findings of sinusitis by a novel method for obtaining culture. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007, 58, 49-52.
- LeBlanc R, Meriden Z, Sutton D, Thompson E, Neofytos D, Zhang S. *Cunninghamella echinulata* causing fatally invasive fungal sinusitis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013, 76, 506-509.
- Álvarez V, Guelfand L, Pidone J, Soloaga R, Ontivero P, Margari A, López G. Rinosinusitis alérgica causada por *Curvularia*. *Rev Iberoam Micol* 2011;28:104-6 - DOI: 10.1016/j.riam.2010.12.004
- Matsuwaki Y, Nakajima T, Lida M, Nohara O, Haruna S, Moriyama H. A case report of allergic fungal sinusitis caused by *Penicillium* sp. and *Cladosporium* sp. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho.* 2001, 104, 1147-1150.
- Swain B, Panigrahy R, Panigrahi D. *Schizophyllum commune* sinusitis in an immunocompetent host. *Indian J Med Microbiol.* 2011, 29, 439-442.
- Pérez L, Lanza D, Loevner L, Kennedy D, Montone K. In situ hybridization for *Aspergillus* and *Penicillium* in allergic fungal sinusitis: a rapid means of speciating fungal pathogens in tissues. *Laryngoscope.* 1997, 107,233-240.
- Gross N, Salas I. *Métodos diagnósticos en micología médica.* 1ª Edición. Editorial de Universidad de Costa Rica. San José. 2012, 189pp.
- Larone D. *Medically important fungi: a guide to identification.* 5a Edición. ASM Press. Washington. 2011, 485pp.
- Nakaya K, Oshima T, Kudo T, Aoyagi I, Katori Y, Ota J, Hidaka H, Oda K, Kobayashi T. New treatment for invasive fungal sinusitis: Three cases of chronic invasive fungal sinusitis treated with surgery and voriconazole. *Auris Nasus Larynx.* 2010, 37, 244-249. 

# Estado actual de las pruebas de diagnóstico en el punto de atención

## Current status of point of care testing

Xinia Porras -Sánchez<sup>1</sup>

### Resumen:

El laboratorio clínico es un servicio que en los últimos tiempos se ha caracterizado por una evolución tecnológica acelerada que ha contribuido junto con la implementación de sistemas de calidad a la mejora sustancial de las metodologías, a la normalización de los procesos, a mejorar los tiempos de respuesta y el manejo de los diagnósticos y tratamientos médicos de los usuarios.

Las pruebas de diagnóstico en el punto de atención (point of care testing o POCT por sus siglas en inglés) son pruebas diseñadas para mejorar la calidad del proceso asistencial de los pacientes en el sistema de salud. Sobre estas pruebas se ha desarrollado una normativa, principalmente a nivel internacional, en aras de proveer una guía para el reporte de resultados fiables en corto tiempo. Estas regulaciones establecen que los POCT deben contar con la adecuada supervisión del laboratorio clínico y debe tener el mismo nivel de calidad analítico y de gestión que las realizadas en el laboratorio central.

El presente artículo es una revisión sobre el estado actual de POCT en el mundo y en Costa Rica con el propósito de contribuir a la normalización en este sistema en nuestro país.

**Palabras clave:** Prueba de glucosa, micrométodo, verificación, normalización.

### Abstract:

Assurance and quality control of culture media used The clinical laboratory is a service which in recent times has been characterized by an accelerated technological evolution that has contributed together with the implementation of quality systems, the substantial improvement of the methodologies, the standardization of processes, to improve response times and the management of diagnostics and medical treatment of users.

Point of care testing (POCT) are tests designed to improve the quality of the care process of patients in the health system. Regulations have been developed on these tests, mainly at international level, in order to provide guidance for the reporting of reliable results within a short time. These regulations establish that POCT must have the adequate supervision of the clinical laboratory and it must have the same level of analytical and management quality than those carried out in the central laboratory.

This article is a review about the current state of POCT in the world and in Costa Rica in order to contribute to the standardization of this system in our country

**Key words:** Glucose test, micromethode, verification, standardization.

### Introducción

La principal necesidad a satisfacer a los usuarios de un laboratorio clínico en la época actual es proporcionar resultados confiables, con calidad desde el punto de vista analítico en un tiempo determinado de respuesta adecuado para la toma de decisiones médicas acertadas y oportunas.

Recibido el 16/02/2017, aceptado para su publicación el 06/03/2017

I. Laboratorio Clínico Hospital Clínica Bíblica, San José.

Correspondencia: xporras@clinicabiblica.com

La Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) define a los métodos “point of care” (POCT) como “*las pruebas en el lugar de asistencia al paciente*”<sup>(1)</sup> y son “*aquellas magnitudes biológicas que se determinan fuera del laboratorio, en un entorno próximo al lugar de asistencia al paciente y que son realizadas de forma manual, automática o semiautomática por personal ajeno al mismo.*”<sup>(1)</sup>

Este tipo de metodología es ampliamente difundido a nivel mundial, existiendo un interés por parte de organizaciones como la International Organization

Standardization (ISO), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO), para establecer lineamientos respecto de los protocolos que permitan comprobar la fiabilidad del método a través de procedimientos de aseguramiento y vigilancia de la calidad en los procesos durante las etapas preanalítica, analítica y posanalítica en la implementación de POCT. El profesional debe tomar en cuenta las múltiples variables que repercutirán en un resultado confiable y la premisa que las pruebas POCT posean el mismo nivel de calidad que las realizadas en el laboratorio central.

El reto principal consiste en lograr una adecuada supervisión de los encargados de los análisis clínicos cuando este tipo de métodos serán procesados en diversos servicios de la atención hospitalaria y por personal ajeno al laboratorio clínico. La supervisión del laboratorio necesariamente debe incluir participación y definición de responsabilidades durante la implementación y seguimiento de estas pruebas, tanto dentro de la estructura organizacional del laboratorio como fuera de ella respecto a la aplicación de las pruebas.

En Costa Rica estableció que el Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica regule la actividad profesional en el área de la Microbiología y Química Clínica por medio de la Ley 771 del año 1949<sup>(2)</sup>. La Ley General de la Salud establece que la salud es un bien de interés público y por tanto regulada por el Estado, estableciendo las diferentes profesiones relacionadas con la salud humana y definiendo que para bancos de sangre, laboratorios clínicos y biológicos en su artículo 83 “deberán funcionar bajo la regencia de un profesional, incorporado al Colegio de Microbiólogos Químicos Clínicos”<sup>(3)</sup>. A la fecha, en sus estatutos, el Colegio de Microbiólogos Químicos Clínicos se ha referido de forma escueta en aras de regular la aplicación de pruebas tipo POCT dentro del sistema de atención de la salud en nuestro país.<sup>(4)</sup>

En Costa Rica existe una necesidad por definir claramente lo requerido para su correcta implementación y supervisión por parte de los laboratorios clínicos por encontrarse los procedimientos de POCT en el alcance de las funciones de los profesionales en microbiología.

Este es un proceso que debe ser retomado por el gremio en forma seria y establecer regulación adecuada en este campo pues al igual que cuando se establece una nueva determinación analítica, es necesario realizar pruebas de validación y correlación con respecto a los métodos de referencia, así como la capacitación continua del personal que realiza estas determinaciones, establecer programas de control de calidad tanto interna como externa y

evaluar el costo-beneficio. Por tanto, un protocolo de verificación para métodos POCT debe mínimamente contemplar estos puntos.

### Características de un servicio de laboratorio clínico en la actualidad

El laboratorio clínico es un servicio el cual se ha visto permeado en las últimas décadas por un gran dinamismo, una evolución tecnológica acelerada y junto con la implementación de sistemas de calidad, ha mejorado la exactitud de las metodologías. El profesional a cargo se ha ocupado de la normalización de los procesos, la mejora los tiempos de respuesta y comprobar la validez de la información útil para el manejo idóneo de los diagnósticos y tratamientos médicos aplicados a los usuarios.

En las últimas décadas el laboratorio clínico como organización, se ha dedicado a la implementación de sistemas de gestión de calidad cuyas referencias son normativas internacionales junto con la demostración objetiva de las competencias técnicas para el reporte de resultados válidos que cumplan con las metas analíticas propuestas. Este proceso de implementación ha *“mejorado el conocimiento y funcionamiento propio de los procesos con un incremento de los resultados, datos e información que aportan al proceso asistencial y que contribuyen a mejorar la calidad de vida y adicionalmente generan un impacto positivo dentro de la estructura sanitaria en términos de costos, al disminuir la necesidad de procedimientos diagnósticos innecesarios, o no requeridos, solicitados por resultados de baja calidad”*<sup>(5)</sup>

Respecto a los requisitos que debe satisfacer un laboratorio clínico, es muy importante que la estructura organizacional defina tiempos de respuesta adecuado al uso previsto de los datos que se le reportan al usuario de sus servicios.

El tiempo de respuesta es influenciado por las etapas preanalítica, analítica y posanalítica. Este requisito “tiempo de respuesta” forma parte de la nueva cultura de servicio que no sólo implica dar un reporte técnicamente válido, sino que debe poseer valores agregados como la mejora continua, seguridad de los pacientes y humanización para la adecuada prestación de los servicios de salud.

El desarrollo de equipos portátiles para mediciones de analitos es consecuencia de los avances presentados en otras ramas de la tecnología, tales como la electroquímica, la óptica y los detectores. Estos equipos permiten llevar el diagnóstico al propio lugar de atención de los pacientes

constituyéndose labores descentralizadas del laboratorio clínico.

Finalmente, la meta de todo laboratorio clínico en los tiempos modernos, acorde a las directrices mundiales de la Organización Mundial de la Salud, sean durante el desarrollo de las actividades centralizadas o descentralizadas, es: seguridad de pacientes, identificación de riesgos en tecnología y reactivos con la minimización de los tiempos de respuesta y resultados técnicamente válidos de acuerdo al uso previsto y de utilidad clínica para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de los pacientes.

### Concepto de POCT y características generales

Además de la definición de la SEQC, la norma INTE/ISO 15189:2014 Laboratorios clínicos requisitos para la calidad y la competencia, define los análisis junto al paciente o POCT como *“análisis realizados cerca o en el lugar que se encuentra el paciente y cuyo resultado lleva a un posible cambio en el tratamiento del paciente.”*<sup>(6)</sup>

Estas metodologías surgen ante la necesidad de obtener resultados confiables en un período corto con el fin de dar al personal asistencial al cuidado del paciente evidencia objetiva para la toma de decisiones clínicas que mejoren el seguimiento de condiciones críticas, clasificar a los pacientes en las áreas de urgencias o de hospitalización con respecto del riesgo a la salud, una intervención terapéutica más rápida y la reducción de complicaciones durante o después de procedimientos médicos y quirúrgicos.

Sobre las ventajas de los métodos POCT es importante mencionar la reducción de costos, pues son equipos más baratos y son movilizados fácilmente de una localidad a otra dentro del hospital. Esta estrategia de atención podría implicar estancias hospitalarias más cortas y costos más bajos para los centros hospitalarios. Por lo general, utilizan pequeños volúmenes de muestra de sangre total en comparación con las metodologías convencionales, utilizan métodos de recolección menos invasivos y generan escaso volumen de residuos disminuyendo la exposición para el personal asistencial. De esta información, se deduce que acorta los tiempos de respuesta.

Otra ventaja relacionada con las metas internacionales de garantía de la seguridad de los pacientes se relaciona con el seguimiento de fármacos durante tratamientos, por ejemplo, los anticoagulantes orales y la medición de la efectividad de los tratamientos e intervenciones médicas. Además, con supervisión adecuada, es una opción para el seguimiento y control de enfermedades crónicas.<sup>(7)</sup>

### Situación sobre la normalización de los POCT a nivel mundial

Respecto a las regulaciones aceptadas a nivel mundial sobre la implementación de metodologías POCT, sobre todo en centros hospitalarios, se tiene como referencia:

La Norma ISO 22870 Point of care testing (exámenes cerca del paciente) – Requerimientos para la calidad y competencia. La norma proporciona los requisitos específicos para las pruebas que se realizan en el lugar de atención del paciente y está redactada de manera que pueda ser implementada por los laboratorios clínicos en forma simultánea con la normativa ISO 15189.<sup>(8)</sup>

Esta norma consiste en una serie de requisitos que se refieren a la organización, sistema de control de calidad, control documental, revisión de contratos, identificación y control de no conformidades, resolución de quejas, servicios de asesoría, acciones correctivas, acciones preventivas, auditoría interna, mejora continua, gestión de los registros de calidad y técnicos, revisión por la dirección.<sup>(8)</sup>

Según la International Organization for Standardization (ISO) el cumplimiento de estos requisitos puede ser llevado a cabo por un hospital, por clínicas o por organizaciones dedicadas a la asistencia sanitaria que proporcionan cuidado ambulatorio excluyendo el autocontrol llevado a cabo por los pacientes o en la comunidad.

El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) propone, en la última edición del documento “Glucose Monitoring in Settings Without Laboratory Support” (POCT13-Ed3), determinar el rendimiento de los sistemas de monitoreo de glucosa en el punto de atención. Recomienda las prácticas de seguridad, control de calidad, la formación y la responsabilidad de la organización describiendo la estructura organizativa y autorización sobre el uso de equipos de medición. El documento revisado incluye muestras de los registros de mantenimiento del medidor y de control de calidad, e incluye actualizaciones de la información acerca de la seguridad, la formación y las pruebas en lugares alternativos.<sup>(9)</sup>

La utilidad de este documento según el Comité de Desarrollo de Documentos de esta entidad es que permite establecer y mantener un sólido programa de monitorización de la glucosa mediante una tarea multifacética por medio de la formación y certificación del personal, la selección adecuada del equipo y su correspondiente control de calidad, la elaboración de procedimientos basados en procesos normalizados y

seguridad del paciente y del personal asistencial a cargo de los procedimientos.

Por su parte la Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO) ha elaborado guías que permiten la correcta implementación de los sistemas POCT como la denominada “Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations. National Patient Safety Goals”. Esta guía expone la idea que es importante determinar de forma objetiva el desempeño como método de ensayo, pero al lado de esta práctica, con la misma rigurosidad, normalizar la implementación que debería incluir los temas de capacitación de los usuarios en todos los niveles definiendo los temas y la periodicidad, documentando los procesos con análisis previo de las posibles fallas en las etapas preanalítica, analítica y posanalítica diseñando un sistema de documentos que describan las actividades y registros para evidenciar el desarrollo de las mismas. Propone proveer autorizaciones hacia el personal para la realización de pruebas, para el control y la calibración de los equipos, verificación de cómo se llevará a cabo la transcripción de los resultados y su conservación preferiblemente en un sistema informático. Sobre la demostración de competencia la institución debe participar en pruebas de aptitud como encuestas de calidad externa. Además, debería existir la figura de un coordinador de POCT vinculado directamente al laboratorio clínico central, cuya responsabilidad es vigilar el adecuado flujo de todo el proceso desde la recolección de las muestras hasta la emisión de un resultado. Esta guía se enfoca en la mejora del modelo de seguridad del paciente.<sup>(10)</sup>

### Situación actual de las POCT en Costa Rica

Respecto a la legislación aplicable en nuestro país el artículo 88 de la Ley General de Salud Nº 5395 establece que “*toda persona autorizada que practique análisis o pruebas especiales en laboratorios privados, deberá ajustar su trabajo a las normas y pautas que fije el Laboratorio Oficial y quedará sujeta a la supervisión de este organismo.*”<sup>(3)</sup> De acuerdo a esta directriz del órgano rector de la salud en Costa Rica, las modalidades de pruebas diagnósticas utilizando muestras clínicas fuera del espacio de un laboratorio clínico debe estar supervisado por el personal competente en el área de la microbiología.

El Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica establece en el acuerdo 5.5 “Acuerdo sobre el uso de glucómetros” en sesión 19:2011-2012 del 10 de agosto del 2011<sup>(4)</sup>, que este ente regulador de la profesión reconoce sobre los avances en materia de los métodos tipo POCT, sin embargo, le corresponde al profesional en Microbiología debidamente incorporado ejercer la

responsabilidad sobre el estado de las calibraciones de los glucómetros, que sean utilizados de acuerdo a las pautas de los fabricantes y con un programa de control de calidad establecido que cumpla las buenas prácticas requeridas. Expone este acuerdo, para el caso de la Caja Costarricense de Seguro Social, cuando se refiere a intervenciones de atención primaria en términos del control y seguimiento de pacientes diabéticos que el glucómetro puede ser utilizado por el personal designado para ello (este mismo documento define como personal designado a médicos generales; médicos especialistas y profesionales en enfermería)

La Ley No.8279 del Sistema Nacional para la Calidad, mayo 21 del 2002, crea el Ente Costarricense de Acreditación (ECA) como una entidad pública de carácter no estatal, con personería jurídica y patrimonio propios responsable de otorgar las acreditaciones en nuestro país contribuyendo a mejorar la calidad, competitividad y la productividad de las organizaciones a nivel nacional mediante la observancia en el cumplimiento de requisitos conforme a las buenas prácticas aceptadas internacionalmente.<sup>(11)</sup>

El ECA es el responsable de otorgar las acreditaciones en Costa Rica bajo el esquema INTE/ISO 15189:2014 Laboratorios Clínicos requisitos para la calidad y la competencia, por tanto, los laboratorios acreditados por esta norma podrían optar por la acreditación de las pruebas POCT.

El ECA redactó, como parte de los requisitos que deben cumplir los Organismos de Evaluación de la Conformidad, la política de validación de métodos ECA-MC-PO01. Esta política establece, entre otros temas, “*los lineamientos para la verificación de métodos normalizados que permitan asegurar que los laboratorios de análisis aplican correctamente los métodos, pues el reconocimiento formal de la competencia es uno de los objetivos del ECA*”<sup>(12)</sup> En conjunto con lo dispuesto en esta política el ECA redactó la “Guía para la validación de métodos” ECA-MC-PO01-G01, con el objetivo de delimitar los procedimientos para la validación de los métodos de ensayo y calibración con un mínimo de actividades que los laboratorios, en este caso clínicos, deberían incluir en un experimento de validación o verificación para un método de ensayo.<sup>(12)</sup>

Podemos considerar para el caso de los métodos POCT como la situación de metodologías normalizadas.

### Conclusiones

La correcta implementación de las metodologías POCT por parte de las instituciones de atención de la salud

requiere de procedimientos liderados por los profesionales a cargo del laboratorio clínico y su supervisión técnica adecuada tanto sobre el personal externo que aplica la prueba como el control de calidad del desempeño analítico del método en sí.

Las instituciones de salud deben elaborar un programa para la gestión de las metodologías consideradas POCT de acuerdo a las disposiciones nacionales e internacionales ya descritas en esta revisión.

Tal programa, considerando las diversas guías y normativas debería incluir:

1. Métodos normalizados para la obtención de las muestras.
2. Procedimientos para la identificación del paciente.
3. Gestión de los registros importantes tales como programas y cumplimiento de las actividades de mantenimiento de las unidades que conforman el sistema.
4. Capacitación de los operadores en cualquier nivel relacionado.
5. El laboratorio clínico debe asegurar la calidad de las POCT, con una gestión de la calidad multidisciplinaria. Esta gestión de la calidad de las POCT debe ser liderado por el laboratorio clínico a través de la figura de coordinador de POCT.
6. Es necesario conocer la exactitud de los resultados y su intercambiabilidad con los obtenidos en los analizadores del laboratorio.
7. La organización debe tener procedimientos para las acciones de investigación de no conformidades en el sistema y el seguimiento subsiguiente para resolución de las causas raíz que originaron el incumplimiento de los requisitos.
8. Realizar un análisis de riesgos de las potenciales fallas o errores en las fases preanalítica, analítica, y posanalítica cuando se aplican de rutina POCT en el hospital.
9. Si es posible llevar a cabo la conectividad de los dispositivos en una interfase, ésta debe asegurar la validez del resultado asegurando la etapa posanalítica, mediante la revisión y validación de la trazabilidad de los resultados con los datos de los pacientes.

El acuerdo redactado por el Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica <sup>(4)</sup> debe ser retomado y ampliado para regular la aplicación y supervisión

de los métodos POCT en el país tomando en cuenta lo recomendado por las guías internacionales y de acuerdo a la capacidad del estado actual de la tecnología.

## Referencias:

1. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. GUÍA SOBRE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL LUGAR DE ASISTENCIA AL PACIENTE (POCT). In Grupo de Trabajo sobre Pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia (POCT); 2015. p. 4.
2. Asamblea Legislativa de la República de Costa Rica. Ley 771 Ley Constitutiva del Colegio de Microbiólogos de Costa Rica. 1949 octubre 25.
3. Asamblea Legislativa de la República de Costa Rica. Ley General de Salud. 1973 octubre 30.
4. Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica. N° 5.5 Acuerdo de Uso de Glucómetros.. San José; Acta 10:2010-2011.
5. Garzon AC. Sistemas de gestión en el laboratorio clínico en Latinoamérica. The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2015; 26(4): p. 221-225.
6. INTECO. INTE/ISO 15189. Laboratorios clínicos requisitos para la calidad y la competencia. 2014.
7. Abellán Tejada L, Quiñones Torrelo C, Rodríguez Borja P, Villanueva Gil P, Rodríguez Borja E, Aparici Ibáñez M. Elsevier. (En línea): IV Congreso Nacional del Laboratorio Clínico; 2016 (citado 2016). Disponible en: [www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-pdf-13155817-S300](http://www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-pdf-13155817-S300).
8. International Organization Standardization. [www.iso.org](http://www.iso.org). (En línea); (Citado 2016) Disponible en : [http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue\\_tc/catalogue\\_detail.htm?csnumber=71119](http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=71119).
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Clinical and Laboratory Standards Institute. (En línea); 2016 (citado 2016). Disponible en: <http://shop.clsi.org/point-of-care-documents/POCT13.html>.
10. Joint Commission.org. Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations. (En línea); 2016 (citado 2017) Febrero. Disponible en: [https://www.jointcommission.org/standards\\_information/npsgs.aspx](https://www.jointcommission.org/standards_information/npsgs.aspx).
11. Asamblea Legislativa de la República de Costa Rica. Ley 8279 Sistema Nacional para la Calidad. 2002.
12. Ente Costarricense de Acreditación. ECA-MC-PO01-G01. 2014 Febrero 18.
13. Ente Costarricense de Acreditación. ECA-MC-PO01 Política de Validación de Métodos. 2014 Febrero 18. 

# Verificación del método Accu-Chek Inform II® para la medición de la concentración de glucosa sanguínea en pacientes hospitalizados

## Accu-Chek Inform II® verification method for blood glucose monitoring in hospitalized patients

Xinia Porras -Sánchez<sup>1</sup>

### Resumen:

El propósito del trabajo es demostrar objetivamente el desempeño del método de diagnóstico en el punto de atención Accu-Chek Inform II® para medición de la concentración de glucosa sanguínea mediante el diseño de un modelo para la verificación del método normalizado. Se desarrolla una investigación de tipo aplicación práctica, de los conceptos de verificación para procedimientos normalizados de análisis en el laboratorio clínico.

Se realizó un procedimiento basado en el documento del Ente Costarricense de Acreditación denominado "Guía para la validación de métodos" ECA-MC-PO01-G01. Se realizó un experimento evaluando la precisión, veracidad y linealidad por medio de materiales control con concentración conocida y se comparó con el método de referencia.

Conclusión: Es recomendable que estas pruebas sean aplicadas en el ámbito hospitalario a partir de métodos normalizados para pacientes hospitalizados, por personal capacitado y mediante una gestión liderada por el laboratorio clínico.

**Palabras clave:** Glucosa capilar, método de referencia, validación, monitorización

### Abstract:

The purpose of this work is to demonstrate the performance of the Accu-Chek Inform II® system for blood glucose monitoring through the design of a model for the verification of the standard method. It is designed a research of practical application by the concepts of analyses verification from the standard operating procedures in the clinical laboratory.

The procedure is based on the document of the Costa Rican Ente of Accreditation called "Guide for the validation of methods" RCTs-MC-PO01-G01. An experiment was conducted assessing the accuracy, veracity and linearity by means of control reagents with known concentration and compared with the reference method.

Conclusion: It is recommended that these tests are applied in the hospital setting from standard methods for inpatients and by a management led by the clinical laboratory.

**Key words:** Capillary glucose, reference method, validation, monitoring.

## Introducción

La calidad de los resultados del laboratorio clínico es el principal requerimiento de los usuarios del mismo, ya sean los pacientes o los médicos que solicitan sus servicios y comprende tanto la calidad analítica como el tiempo de respuesta de la prueba solicitada.

Las pruebas de diagnóstico en el punto de atención (point of care testing o POCT por sus siglas en inglés) se definen como *“aquellas magnitudes biológicas que se determinan fuera del laboratorio, en un entorno próximo al lugar de asistencia al paciente y que son realizadas de forma manual, automática o semiautomática por personal ajeno al mismo”*<sup>(1)</sup>.

Estas pruebas han tomado cada vez mayor importancia en los centros de salud ya que proveen una información muy importante en un tiempo mínimo que permite la toma de decisiones adecuadas para la atención del paciente.

Existe un interés muy grande por parte de organizaciones como la International Organization Standardization (ISO), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO) para establecer lineamientos respecto a los protocolos que permitan comprobar la exactitud del método mediante procedimientos de aseguramiento y vigilancia de la calidad normalizados durante las etapas preanalítica, analítica y posanalítica.

Estas especificaciones mundiales procuran asegurar que los métodos POCT tengan el mismo nivel de calidad que las realizadas en el laboratorio central. El reto principal consiste en lograr una adecuada supervisión de los encargados de los análisis clínicos cuando este tipo de métodos sean procesados en diversos servicios de la atención hospitalaria y por personal ajeno al laboratorio clínico.

La supervisión del laboratorio necesariamente debe incluir participación y definición de responsabilidades durante la implementación con el seguimiento de estas pruebas por medio de su verificación y control de calidad periódico.

La implementación de los sistemas de calidad en los laboratorios clínicos ha permitido mejorar la calidad de los datos obtenidos durante la asistencia a los usuarios en los diferentes niveles de atención contribuyendo a mejorar el manejo de los costos de la estructura sanitaria ya que se disminuyen los procedimientos innecesarios o erróneos<sup>(2)</sup>.

Actualmente los sistemas de calidad son más robustos; la normativa pasó de ser un fin a ser una herramienta que permite el logro de los objetivos de calidad y mejora. También permite dar respuesta a los procesos, lo cual demanda que sean flexibles, dinámicos y sostenibles en el tiempo.

## Características Accu-Chek Inform II®

El sistema Accu-Check Inform II® de la casa comercial Roche®, es un medidor de glucosa en sangre con conectividad inalámbrica, diseñado para ser operado por profesionales del área de la salud para el diagnóstico inmediato de los niveles de glucosa sanguínea y su monitorización en hospitales y centros médicos. Puede utilizar sangre venosa, arterial, capilar o neonatal<sup>(6)</sup>. Los resultados se envían al punto de acceso más próximo y al expediente electrónico del paciente.

Para la medición de glucosa se utiliza un reactivo que es una variante mutante de la enzima quinoproteína glucosa deshidrogenasa (Mut. Q-GDH), de *Acinetobacter calcoaceticus*, recombinante en *E. coli*<sup>(7)</sup>. El volumen requerido de muestra es de 0.6 µl, el tiempo de medición es de 5 segundos y el rango está comprendido entre 10 y 600 mg/dL.

Los reactivos de control y de linealidad son soluciones de D-glucosa. Las soluciones control son utilizadas con la finalidad de comprobar la estabilidad del sistema analítico, mientras que el grupo de controles de linealidad tienen por objetivo la función y exactitud de todo el sistema en el rango declarado por el fabricante.

El sistema reactivo Accu-Chek Inform II es trazable al material de referencia de glucosa NIST SRM 917. El protocolo de validación del fabricante utilizó como referencia el método de hexoquinasa Hitachi 917<sup>(7)</sup>.

La cadena de trazabilidad inicia con el patrón NIST SRM 917, finalizando en la medición de glucosa con una incertidumbre expandida acumulada de 3,0 %<sup>(8)</sup>.

De acuerdo a los parámetros de desempeño analítico del método se tiene las siguientes especificaciones máximas declaradas por el fabricante: La variación de la prueba declarada en el inserto en términos de la repetibilidad y precisión intermedia<sup>(6)</sup>

La linealidad del método se demostró analizando 9 muestras de sangre venosa con concentraciones de

Tabla 1. Repetibilidad según Roche®

Promedio en mg/dl	41,6	122,4	186,7
Desviación estándar en mg/dl	1,8	4,8	7,4
Coefficiente de variación	4,3	3,9	4,0

**Tabla 2.** Precisión Intermedia según Roche®

Promedio en mg/dl	44,9	117,9	306,4
Desviación estándar en mg/dl	1,2	2,1	5,1
Coefficiente de variación	2,7	1,8	1,7

**Tabla 3.** Resultado de precisión de la verificación del método Accu-Check Inform II®

Concentración evaluada (mg/dl)		Método Accucheck (mg/dl)	Especificación del fabricante (mg/dl)
45,0	Repetibilidad	0,683	1,8
	Precisión intermedia	0,98	1,2
100,6	Repetibilidad	0,894	4,8
	Precisión intermedia	1,47	2,1
234,0	Repetibilidad	1,483	7,4
	Precisión intermedia	2,60	5,1

glucosa comprendidas entre los (2,0 a 629,7) mg/dl. Se midió cada concentración de forma cuádruple utilizando 8 lotes diferentes de reactivo.

Los resultados obtenidos de la regresión lineal fueron:

Lot #1:  $y=0.9593x+2.92$ ;  $R2 = 0.999$

Lot #2:  $y=0.9884x+3.447$ ;  $R2 = 0.998$

Lot #3:  $y=0.9946x+3.80$ ;  $R2 = 0.998$

Con base en los resultados del análisis de los datos se afirma que el método es lineal en el rango de (10 a 600) mg/dl<sup>(7)</sup>.

La exactitud del sistema POCT comparó con un método de referencia, PCA-HK (Hitachi 917), utilizando muestras de sangre capilar de 100 participantes con niveles de glucosa entre 21-547 mg/dL, obteniendo por regresión lineal la siguiente ecuación  $y = 1.012x - 2,7$  con un coeficiente de correlación  $r = 0,993$ <sup>(7)</sup>, lo cual demostró que ambos métodos presentan similitud en el desempeño.

Dado que el fabricante ha caracterizado el método en términos de exactitud y linealidad se consideró la medición de glucosa con Accu-Chek Inform II como normalizado.

### Materiales y métodos

De acuerdo a la definición del Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) la verificación es la aportación de evidencia objetiva que una metodología “satisface las propiedades de funcionamiento declaradas o los requisitos legales de un sistema de medida”<sup>(9)</sup>. Esta evidencia debe contemplar la magnitud del error asociado a cada uno de los parámetros del método y compararlo

con el requerimiento de calidad o error máximo permitido para decidir apropiadamente el uso del procedimiento para liberar resultados.

Para diseñar el protocolo de verificación se siguieron las recomendaciones del documento ECA-MC-PO01-G01, Guía para la Validación de Métodos, en el apartado 3.1.2<sup>(10)</sup>.

Para evaluar la exactitud del método se utilizó la guía User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline (EP15-A2) aprobada por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>(11)</sup>. El propósito de la EP15-A2 es proveer a los laboratorios clínicos de una herramienta eficiente para la verificación de los métodos de medición rutinarios con confianza estadística suficiente para aceptar o rechazar lo declarado por el fabricante en términos de precisión y veracidad. Esta guía debe ser aplicada en situaciones donde el desempeño del método ha sido previamente validado antes de su comercialización<sup>(11)</sup>.

En el alcance de esta guía se advierte a los laboratorios que este experimento no evalúa la dimensión del error analítico total donde otros efectos no contemplados por la guía pueden influir en el resultado final de una medición<sup>(11)</sup>.

Los datos obtenidos se analizaron por medio de plantillas de Excel® comerciales previamente validadas por GMigliarino Consultores®.

Los reactivos y pasos en la aplicación del protocolo son los siguientes:

- Reactivos de control con concentraciones de glucosa cercanas a los niveles de decisión médica.

- Control de linealidad L2 con un valor asignado de 45 mg/dl. La incertidumbre declarada es de +/- 3 % (8) o +/- 1,35 mg/dl
- Precinorm® del sistema Cobas c501 con un valor asignado de 100,6 mg/dl +/- 1,20 mg/dl <sup>(12)</sup>
- Precipath® del sistema Cobas c501: con un valor asignado de 234 mg/dl +/- 2,61 mg/dl <sup>(12)</sup>
- Se utilizó los datos de repetibilidad y precisión intermedia para el método de acuerdo al inserto de la prueba.
- Se calibró el equipo Accucheck Inform II® de acuerdo a la periodicidad del fabricante al programar el lote 474697 de tiras reactivas.
- Se realizó para cada control tres réplicas diarias durante cinco días hasta obtener un total de 15 datos por nivel de material control.

Para evaluar la linealidad y verificar la correspondencia entre el valor obtenido y los valores teóricos en el intervalo de medición declarado, se comparó la media de los valores obtenidos para cada nivel de control y los asignados teóricamente. Estos se aceptan si las diferencias relativas son inferiores o iguales al requerimiento de calidad elegido. De acuerdo a lo recomendado por la literatura se aumentó el número de réplicas a 3 <sup>(13)</sup> para disminuir los efectos que pudiera tener la imprecisión del método en la apreciación del error en las mediciones respecto al requerimiento de calidad.

Se utilizó Accu-Chek Linearity Test Kit® en mg/dl <sup>(14)</sup>.

Las concentraciones declaradas (teóricas) en el inserto del reactivo son las siguientes:

L1 mg/dl	L2 mg/dl	L3 mg/dl	L4 mg/dl	L5 mg/dl	L6 mg/dl
28	45	118	307	511	559

Se midió por triplicado cada uno de los niveles de control de linealidad en el glucómetro.

Se calculó la media para cada vial a partir de las réplicas.

Se calculó el error relativo entre la media de las réplicas contra el valor teórico asignado a cada vial versus el requerimiento de calidad. Para este experimento se eligió el requerimiento de calidad del CLIA '88 que es de valor objetivo +/- 10 % <sup>(15)</sup>.

Para verificar la correlación de los resultados obtenidos en el glucómetro con el método que se realiza en el laboratorio central para la medición de glucosa el cual es en la plataforma de análisis Cobas c501, la cual se

encuentra acreditada y por medio de la participación en comparaciones interlaboratoriales, se demostró matemáticamente que su error sistemático no era significativo. Ambos métodos poseen una jerarquía metrológica similar y la especificidad e intervalo de determinación analítica son comparables entre sí <sup>(16)</sup>.

La obtención de los datos para comparar los métodos se realizó con el siguiente procedimiento:

Se analizó 40 muestras (sueros) distribuidas dentro del intervalo analítico por los dos métodos, en 4 corridas diarias de 10 muestras cada una.

Se calculó las diferencias entre el resultado de cada muestra obtenido por los métodos en estudio y se analizó el comportamiento estadístico. Los pares de resultados se graficaron para determinar si existía relación lineal e interdependencia por medio del programa Excel® <sup>(16)</sup>.

Para demostrar el comportamiento de la distribución estadística del control de calidad interno se calculó el promedio y coeficiente de variación de 20 datos de cada nivel de control del sistema AccuCheck Inform II®. Estos controles poseen valores asignados por el fabricante <sup>(12)</sup>. Estos datos se graficaron mediante una representación de Levey-Jennings y se analizaron por medio del programa estadístico Minitab®. No se excluyó ningún valor por el filtro de Dixon.

## Resultados

Con respecto a la precisión del método en estudio se puede observar en la tabla 3 que en los tres niveles de control se obtiene una variación (repetibilidad y precisión intermedia) menor a la especificación del fabricante.

Al evaluar la veracidad, las concentraciones experimentales y teóricas en cada nivel de control se encuentran dentro del intervalo de confianza al 95 % obtenido a partir de la incertidumbre del método, tal como se muestra en la tabla 4

Los resultados del experimento de linealidad se presentan en la tabla 5:

El valor obtenido en la tabla corresponde al promedio de las réplicas de cada control. Se obtuvo porcentajes de error menores al requerimiento de calidad CLIA '88 (Valor +/- 10 %) en todo el ámbito del intervalo de concentraciones.

En la gráfica 1 el coeficiente de correlación de los datos obtenidos a partir de los controles evidencia la relación lineal de los datos en el ámbito de medición. Además, el intervalo reportable de la prueba se definió entre (27,0 a 539,7) mg/dl pues el coeficiente del análisis de regresión lineal es igual a 1, demostrando concordancia

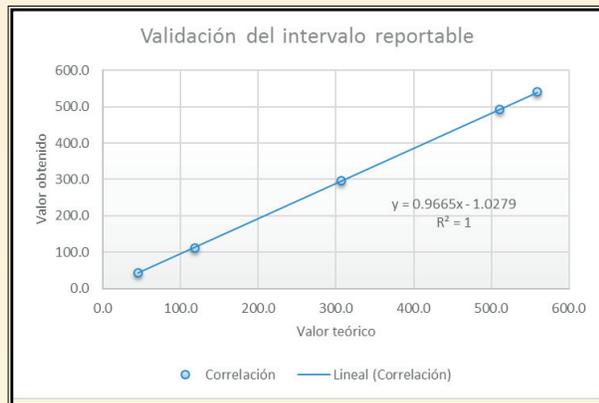
**Tabla 4.** Resultado de veracidad en la verificación del método Accu-Check Inform II®

Concentración asignada (mg/dl)	Método Accucheck (mg/dl)	
45,0	Concentración obtenida	44,2
	Incertidumbre declarada expandida	1,35
	Intervalo de confianza al 95 %	(41,16 a 47,24)
	Sesgo absoluto	-0,8
100,6	Concentración obtenida	103,4
	Incertidumbre declarada expandida	1,2
	Intervalo de confianza al 95 %	(99,39 a 107,41)
	Sesgo absoluto	2,8
234,0	Concentración obtenida	235,5
	Incertidumbre declarada expandida	2,61
	Intervalo de confianza al 95 %	(228,13 a 242,81)
	Sesgo absoluto	0,6

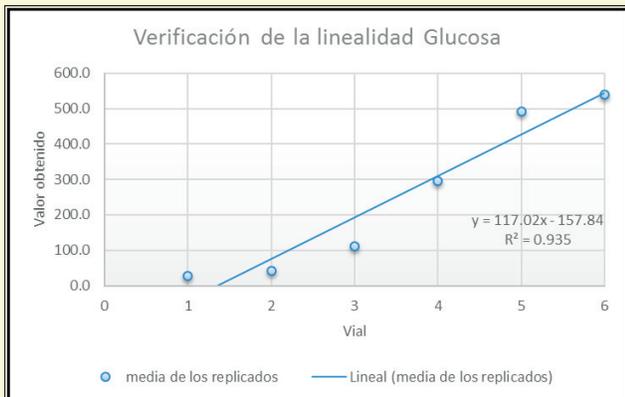
**Tabla 5.** Porcentaje de error durante la verificación de linealidad del método Accu-Check Inform II®

Glucosa mg/dl			
Control	Teórico	Obtenido	% Error
1	28.0	27.0	-3.6
2	45.0	42.7	-5.2
3	118	112.3	-4.8
4	307	296.7	-3.4
5	511	492.0	-3.7
6	559	539.7	-3.5

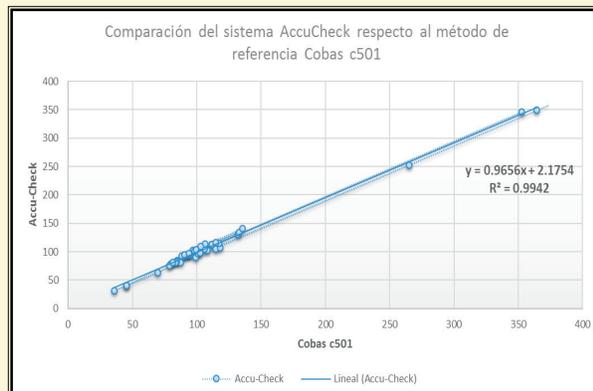
**Gráfica 2.** Intervalo reportable del método Sistema Accu-Check Inform II®



**Gráfica 1.** Recta de mejor ajuste que relaciona cada control de linealidad con la media obtenida



**Gráfica 3.** Relación lineal y ecuación de la recta de mejor ajuste al comparar los métodos Accu-Check Inform II® y Cobas c501®



entre el valor teórico de cada control y el obtenido experimentalmente (gráfica 2).

En la comparación de los métodos en estudio y referencia (gráfica 3) se obtuvo un coeficiente de correlación 0,9942 lo que demuestra la interdependencia de los resultados obtenidos cuando la glicemia es reportada por ambos métodos.

Se analizó las diferencias relativas y absolutas entre los dos métodos de cada par de datos por medio de la estimación de los promedio y la desviación estándar de las diferencias absolutas yi-xi y relativas DRi. Con esos

**Tabla 6.** Intervalos de confianza de las diferencias relativas y absolutas entre los métodos

yi-xi (mg/dl)		DRi (mg/dl)	
Promedio	1,7	Promedio	1,9
Desviación estándar	5,3	Desviación estándar	5,5
Intervalo de confianza		Intervalo de confianza	
(-9,0 a 12,4)		(-9,1 a 12,9)	

estadísticos se calculó el intervalo de confianza al 95 % (ver tabla 6) y tanto para las diferencias absolutas como las relativas los intervalos contienen el valor 0.

El promedio y la desviación estándar del control de calidad interno obtenida para el control comercial bajo y alto es de 44 mg/dl +/- 0,9 mg/dl y 297 mg/dl +/- 5,6 mg/dl, respectivamente. Todos los valores obtenidos se encuentran dentro +/- 2 desviaciones estándar, y ningún resultado fue excluido.

Con el programa Minitab® se demostró gráficamente la normalidad de los datos para ambos niveles. Ver figuras 1 y 2.

**Discusión**

Es recomendable que los métodos en el laboratorio clínico sean verificados antes que sean utilizados en la reporte de resultados para la toma de decisiones clínicas. Este principio es aplicable también los métodos POCT.

Para evaluar la precisión (repetibilidad y precisión intermedia) y la veracidad por medio del protocolo EP15-A2 User Verification of Performance for Precision and Trueness.

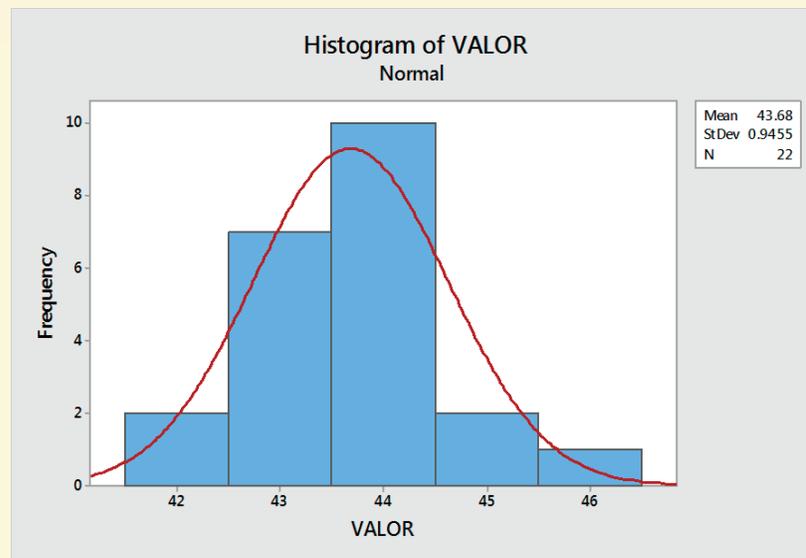
Se demostró que la precisión del Accu-Check Inform II® es mejor que el mismo parámetro declarado por el fabricante en cada una de las concentraciones evaluadas. Este desempeño se considera adecuado en satisfacer los requisitos de funcionamiento.

Respecto a la veracidad del método, en los tres niveles de control evaluado se observa, que tanto la concentración asignada como la obtenida, se encuentran contenidas en el intervalo de confianza al 95 % por lo tanto, implica que existe un grado de concordancia adecuado entre los valores obtenidos y el valor aceptado de referencia.

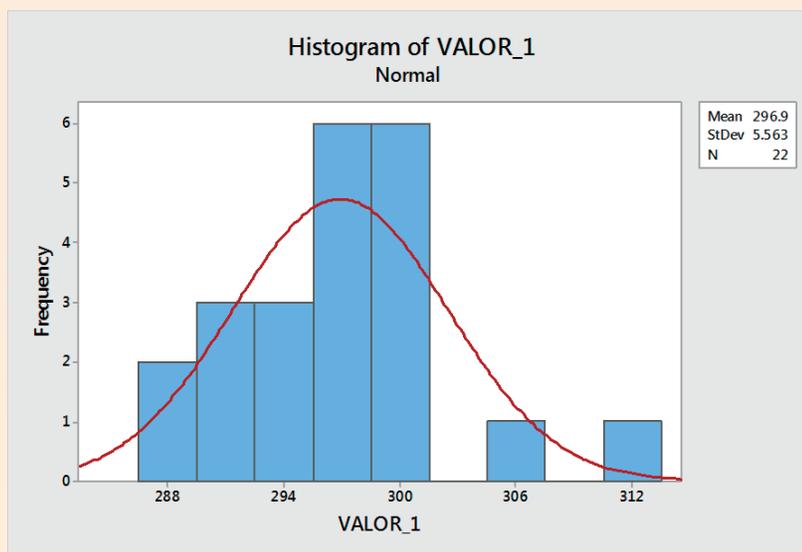
Se puede afirmar que el sistema Accu-Check Inform II® demostró exactitud para el reporte de resultados.

En el análisis de la linealidad, como parámetro de desempeño, se comprobó una interdependencia adecuada

**Figura 1.** Demostración de normalidad de los datos del control bajo Accu-Check® por medio de Minitab®



**Figura 2.** Demostración de normalidad de los datos del control alto Accu-Check® por medio de Minitab®



entre los datos según el análisis de regresión lineal, puesto que los coeficientes de Pearson para ambas rectas son 0,935 y 1 de acuerdo a las gráficas 1 y 2 respectivamente<sup>(17)</sup>. El comportamiento lineal del método fue demostrado en el ámbito de (27,0 a 539,7) mg/dl, el mismo concuerda con el declarado en el inserto de la prueba, con un rango entre (10-600) mg/dl<sup>(7)</sup>. En todos los niveles de control el porcentaje de error obtenido no superó el requerimiento de calidad, por tanto, el error observado no se consideró significativo validando los resultados respecto a su significado clínico<sup>(13)</sup>.

Al realizar la comparación de métodos con el Cobas c501 instalado en el Laboratorio Clínico Hospital Clínica Bíblica fue posible determinar que existe una interdependencia de los resultados para los métodos de determinación de glucosa sanguínea pues el coeficiente de correlación lineal o de Pearson es mayor a 0,99.

En el análisis de las diferencias se calculó los intervalos de confianza de las medias para las diferencias absolutas y relativas, se comprobó que ambos contienen el cero demostrando que no existen diferencias significativas ni evidencia de error sistemático constante o proporcional entre ambos métodos<sup>(16)</sup>.

El sistema AccuCheck Inform II® posee reactivos controles de calidad, cuyos valores son asignados por el fabricante<sup>(6)</sup>. Con estos materiales se demostró que los datos del control interno de calidad poseen una distribución estadística normal similar al método de referencia escogido para este estudio, cuando fueron analizados por el programa Minitab®

## Conclusiones

El desempeño del Sistema AccuCheck Inform II® en la medición de glucosa por medio de la verificación propuesta satisface los requisitos sobre el uso previsto por medio de evidencia objetiva.

Se recomienda que estas pruebas sean aplicadas a partir de métodos normalizados, por personal capacitado y mediante una gestión liderada por el laboratorio clínico que contemple la escogencia, verificación y diseño de un programa de control de calidad de los métodos POCT diseñados para uso en las instalaciones de los servicios de salud.

Las metodologías POCT son consideradas de tamizaje, con el fin de agilizar el proceso de atención de los usuarios. Es importante demostrar la exactitud respecto al método llevado a cabo en el laboratorio central para valorar su concordancia

## Referencias

1. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. GUÍA SOBRE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL LUGAR DE ASISTENCIA AL PACIENTE (POCT). In Grupo de Trabajo sobre Pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia (POCT); 2015. p. 4.
2. Garzon AC. Sistemas de gestión en el laboratorio clínico en Latinoamérica. The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2015; 26(4): p. 221-225.

3. Asociación de Servicios Médicos Costarricenses. Hospital Clínica Bíblica. [Online]; 2016 [cited 2016]. Available from: <http://www.clinicabiblica.com/>.
4. Asociación de Servicios Médicos Costarricenses. Hospital Clínica Bíblica. [Online]; 2016. Available from: <http://www.clinicabiblica.com/site/index.php/es/mision-vision>.
5. Asociación de Servicios Médicos Costarricense. Hospital Clínica Bíblica. [Online]; 2016 [cited 2016]. Available from: <http://www.clinicabiblica.com/site/index.php/es/acreditaciones?start=6>.
6. Roche Diagnostics GmbH. Accu-Check Inform II REF 05942861. 2015.
7. U.S. Food and Drug Administration. New device – New glucose test strips with a modified GDH-PQQ methodology that has reduced reactivity to maltose. FDA; 2012.
8. Roche Diabetes Care, Inc. Roche Diabetes Care Glucose Reference Method Traceability. 2016.
9. Centro Español de Metrología. Vocabulario Internacional de Metrología. 3rd ed. España: Ministerio de Industria, Energía y turismo; 2012.
10. Ente Costarricense de Acreditación. ECA-MC-PO01-G01 Guía para la Validación de Métodos. 2014 Febrero 18.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. User Verification of Performance for Precision and Trueness; Approved Guideline. 2005.
12. Roche Diagnostics GmbH. Traceability and uncertainty. Cobas c501/cobas c502/c311/c701/c702-PreciControl ClinChem Multi 1. 2016 Agosto.
13. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité Técnico. Comisión de Metrología. Procedimiento recomendado para el estudio de la linealidad en el Laboratorio Clínico. 2011 Diciembre.
14. Roche. Accu-Chek Linearity Test Kit®. 2015.
15. Westgard QC. Westgard Web site. [Online]; 2016 [cited 2016]. Available from: <https://www.westgard.com/clia.htm>.
16. Canalías F. Conceptos de Metrología en el Laboratorio Clínico. 2012 Mayo.
17. Fuentes Arderiu X, Castiñeiras Lacambra M, Queraltó Compañó J. Bioquímica Clínica y Patología molecular Barcelona: Reverté; 1998. 



## AVISOS DEL COLEGIO

### Cuotas que rigen a partir del 1º enero de 2017.

Se avisa a los colegiados que conforme al artículo XLIII del Reglamento Interno del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica, corresponde aplicar el aumento automático de la colegiatura y cuota de laboratorio.

**Colegiatura €12.600 Laboratorio €6.300 Técnicos €2.000 Miembros en el exterior €2.500**

### Estimadas y estimados colegiados

Les recordamos que la base de datos del colegio debe actualizarse de forma continua; por tal razón, les solicitamos que realice la actualización mediante la fórmula que se diseñó para tal fin.

Pueden solicitarla mediante el correo electrónico: [colmqc@racsa.co.cr](mailto:colmqc@racsa.co.cr) o a través del fax 2225-5138.

### Aviso de morosidad

Se les recuerda a todos los microbiólogos del país la obligatoriedad del pago puntual de la Colegiatura, según el artículo 15 de la Ley Constitutiva del CMQC-Ley 771.

El incumplimiento de este artículo lleva al estado de morosidad y suspensión de la licencia de trabajo.



# *Acanthamoeba* genotype T4 keratitis in a patient with Thygeson's superficial punctate keratitis

## Queratitis por *Acanthamoeba* genotipo T4 en un paciente con queratitis punteada de Thygeson

Diego Rodríguez Mena<sup>I</sup>, Lissette Retana-Moreira<sup>II, III</sup>, Elizabeth Abrahams-Sandi<sup>II, III</sup>

### Resumen:

*Acanthamoeba* genotipo T4 en un adulto mayor con historia de queratitis punteada de Thygeson. Para el diagnóstico se emplea como muestra raspado corneal y se aplican las técnicas de observación microscópica directa, cultivo en agar no nutritivo, tinción de Giemsa y una PCR específica para *Acanthamoeba* que amplifica el fragmento DF3 de la región 18S ADN ribosomal. Como factor predisponente a la infección se propone el empleo terapéutico de lentes de contacto en un paciente con lesión previa del epitelio corneal. Este es el primer caso de queratitis amebiana reportado y confirmado en Costa Rica.

Palabras clave: *Acanthamoeba* genotipo T4, queratitis, queratitis punteada superficial de Thygeson, amebas de vida libre.

### Abstract:

A case of amoebic keratitis due to *Acanthamoeba* genotype T4 is reported. The patient is a 74-year old woman with Thygeson's superficial punctate keratitis. Corneal scrapings were employed for the diagnosis, which included direct microscopic observation, Giemsa stains, cultures in non-nutrient agar and a PCR that amplifies the DF3 fragment of 18S rDNA. The therapeutic use of contact lenses is proposed as the predisposing factor in this case, considering that the patient has a previous damage of the corneal epithelium. This is the first case of amoebic keratitis reported and confirmed in Costa Rica.

Key words: *Acanthamoeba* genotype T4, keratitis, Thygeson's superficial punctate epithelial keratitis, free living amoeba.

### Introduction

Thygeson's superficial punctate keratitis (TSPK) is a rare, benign, self-limited, chronic, inflammatory disorder, with adverse impact on the visual function and quality of life in patients. Treatment includes ocular lubricants and corticosteroids. The therapeutic use of contact lenses is recommended in cases of severe TSPK, however, their use can increase the risk of microbial keratitis, including amoebic keratitis (AK)<sup>(1)</sup>.

AK is produced by free-living amoebae, especially the genus *Acanthamoeba*. AK can lead to severe corneal damage, loss of vision and even the loss of the eye. Up to date, AK is considered a rare disease, included in the Orphanet database (ORPHA67043), with an estimated prevalence of 1-9 / 100,000<sup>(2)</sup>.

The use of contact lenses for prolonged periods and their inadequate cleaning have been associated with a considerable increase in the possibility of suffering AK<sup>(2,3,4)</sup>. Once *Acanthamoeba* comes in contact with the cornea, the potential damage will depend on biological and physiological characteristics of the amoeba, as well as the conditions of the cornea itself. Some authors suggest that a prior corneal trauma is necessary for the amoeba to invade, otherwise the infection will not develop<sup>(5,6)</sup>.

Recibido el 20/03/2017, aceptado para su publicación el 23/03/2017

I. Clínica Da luz, Alajuela, Alajuela, Costa Rica

II. Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San Pedro, San José, Costa Rica

III. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales,

Universidad de Costa Rica. San Pedro, San José, Costa Rica

Correspondencia: eabrahams@ucr.ac.cr

To date, *Acanthamoeba* genotype T4 is the most frequently isolated from clinical cases. It is reported as the cause of 90% of amoebic keratitis, with similar percentages for granulomatous amoebic encephalitis and cutaneous infections<sup>(2)</sup>.

A case of keratitis due to *Acanthamoeba* genotype T4 in an elderly woman with recurrent TSPK is reported here. This is the first *Acanthamoeba* keratitis case confirmed and reported in Costa Rica.

### Case report

A 74-year old woman with an 8-year history of bilateral TSPK presented with left eye tearing, mild pain, photophobia and lid edema. In observation of her left eye on slit lamp, a round-shaped diffuse superficial defect with epitheliitis was detected. It was located on the superior limbus, 3.5 mm radio, with clean borders and no mucopurulent discharge. Minimal anterior chamber activity was observed. Observation of her right eye was unremarkable.

Her medical records indicated a reactivation of the TSPK just one month before the observation of the lesion. The reactivation was successfully treated with fluorometholone acetate 0.1% (flumetol NF Ofteno, Laboratorios Sophia, Jalisco, Mexico) and topical 0.1% cyclosporine (Modusik A, Laboratorios Sophia, Jalisco, Mexico), one drop every four and twelve hours, respectively, on both eyes. Contact lenses (Acuvue Oasys, Johnson and Johnson, Jacksonville, FL, USA.), lens power +1.50 BC 8.4 (RE) and +3.75 BC 8.4 (LE) were recommended for the treatment of her chronic disease and the correction of presbyopia.

Initially, an infection due to bacteria or fungi was suspected. The patient was treated with fortified vancomycin ophthalmic-drops every three hours and ceftazidime ophthalmic-drops every four hours; the topical use of cycloplegics and mydriatics, fotorretin (phenylephrine 5%, tropicamide 0.5% Laboratorios Poen, Buenos Aires, Argentina) q.i.d. was initiated. For differential diagnosis, corneal scrapings for direct microscopic evaluation were obtained and cultures for bacteria and fungi were performed. Scraping of the corneal ulcer was obtained under aseptic conditions, after instillation of 0.5% proparacaine drop in the conjunctival sac. The material was taken from the edge and the base of the ulcer. Microscopic observation of the samples did not reveal the presence of microorganisms and cultures were reported negative.

One week after initiation of the antibiotic fortified eye-drops treatment, the epithelial defect persisted. The size of the lesion remained the same, but under slit lamp

examination, ring-like stromal infiltrates were observed on the superior half of the cornea. It stained with fluorescein and had perikeratic hyperemia. Considering the lack of response to treatment and given the new lesion observed, it was suspected an AK infection and new corneal scrapings were obtained. This time, sample processing included Giemsa stains and cultures in non-nutrient agar seeded with an *Escherichia coli* suspension. In addition, a specific PCR for *Acanthamoeba* was performed, with primers JDP1 and JDP2. These primers amplify the Diagnostic Fragment 3 (DF3) region of the 18S rDNA<sup>(7)</sup>.

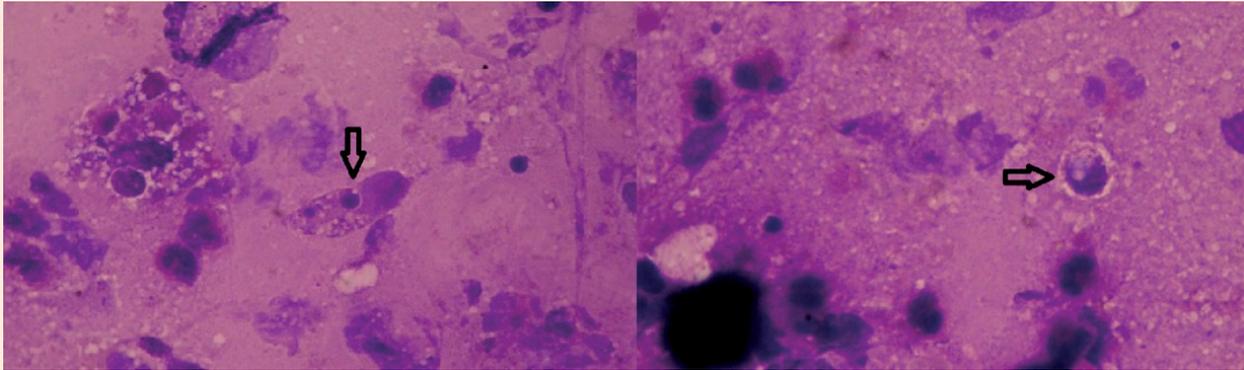
Giemsa stains of the corneal scrapping revealed trophozoites of 25-35 µm, with numerous vacuoles and a "limax" type nucleus (Figure 1). By specific PCR, a 400 pb product was obtained (Figure 2). Sequencing of this PCR product was performed at the Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM), Universidad de Costa Rica and nucleotide sequences were analyzed and edited using the program FinchTV (Geospiza, USA). The identification of the isolate was carried out by comparing the sequence of the DF3 region of the *Acanthamoeba* 18S rRNA gene obtained with those available in the GenBank database, by using the BLAST tool available in the NCBI website<sup>(8)</sup>. *Acanthamoeba* genotype T4 was identified.

Immediately after diagnosis, treatment with eye-drops of a biguanide eye-drops solution, chlorhexidine 0.02% (Laboratorios Premafarma, San Jose, Costa Rica) (every hour, for one month) was initiated, with careful observation of the patient. Daily observation of the ulcer was undertaken and after one month the treatment was tapered down to chlorhexidine 0.02% every two hours and subsequently to four times per day for one month, in response to the severity and healing of the ulcer.

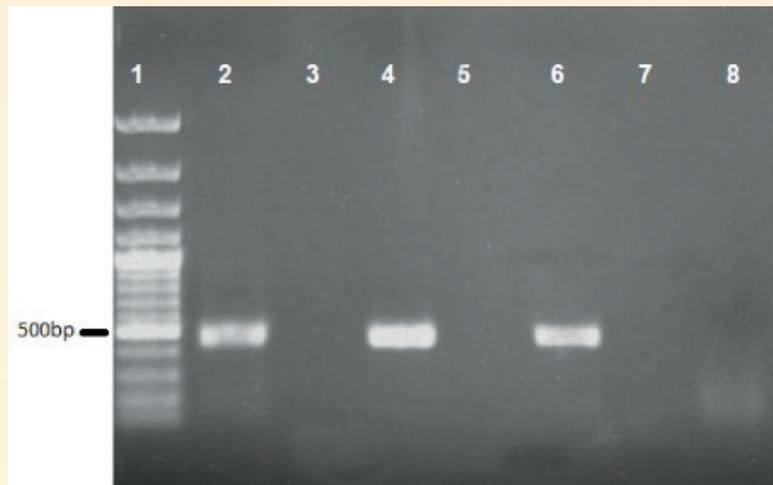
### Discussion

Ocular infections by *Acanthamoeba* are characterized as keratoconjunctivitis and corneal ulcerations. These infections are of slow evolution and very difficult to treat. If they are not early diagnosed, these could lead to the loss of the eye<sup>(2,3,9)</sup>. Amoebic keratitis common symptoms include severe pain, photophobia and tearing. Due to the similarity of symptoms, ophthalmologists have to include *Herpes simplex*, fungal and other types of infectious keratitis in the differential diagnosis<sup>(9)</sup>, which frequently leads to a delay in treatment and worsens the prognosis. According to Lorenzo-Morales<sup>(9)</sup>, the incidence of amoebic keratitis has risen due to an increase in the number of people using contact lenses and the availability of new diagnostic tools. Khan<sup>(2)</sup> suggests that AK is a multifactorial process that involves the use of contact lenses for extended periods, as well as an

**Fig. 1.** High-magnification of extracellular free living amoeba trophozoite and cyst identified in a corneal scraping (Giemsa stain).



**Fig. 2** Agarose gel electrophoresis that shows PCR amplifications using specific pair of primers for *Acanthamoeba*. Lane 1: molecular marker; lane 2: positive control (*Acanthamoeba castellanii* Neff ATCC30010); lane 4: corneal sample; lane 6: positive control (*Acanthamoeba* clinical strain CCL-16, genotype T3); lane 8: negative control.



inappropriate cleaning and biofilm formation on them. Additionally, it has been suggested that host-related factors, such as tissue specificity, host susceptibility, tear factors, sIgA, corneal trauma, and environmental factors like osmolarity<sup>(2)</sup> could trigger an infection by *Acanthamoeba*.

For the diagnosis of this case, culture of corneal scrapings, Giemsa stains and a specific PCR were employed. Positive results were obtained only using the latter two techniques. Despite the culture is considered the gold standard<sup>(3)</sup>, there are variables which, according to our experience, could influence the result. These variables include previous treatments of the patient with antibiotics and antifungal agents, as well as an inadequate manipulation or transportation of the sample. Giemsa staining of the corneal scraping is a simple technique, but it depends largely upon the ability to directly visualize the organism. This is also applicable to confocal microscopy,

which has emerged as a valuable non-invasive tool for clinical diagnosis<sup>(10)</sup>. Today, several PCR-based techniques are also well established and usually increase sensitivity significantly, compared to culture and smear analysis<sup>(11)</sup>. PCR has the additional advantage that it is a simple technique that produces results in a short time and it does not depend on the visual abilities of the laboratory technician. In the present case, the sequence analysis of PCR products allowed the placement of *Acanthamoeba* in the T4 genotype, the most frequent genotype isolated from clinical cases worldwide<sup>(2,3)</sup>.

In this case, we propose that therapeutic use of contact lenses and the disruption of the corneal epithelium due to TSPK could facilitate the entry and establishment of the amoeba. TSPK is an inflammatory disorder which has a long course and is characterized by exacerbations and remissions. Recurrent episodes of tearing, foreign body sensation, photophobia and reduced vision are commonly

observed<sup>(12)</sup>. Additionally, some studies using laser confocal microscopy suggest that subepithelial nerve fiber size, shape and number might be altered<sup>(12)</sup>. These findings are more related with long standing disease and might be permanent<sup>(13)</sup>. Here, the patient has an 8-year history of TSPK, which involves damage of the corneal nerves. Besides facilitating the entrance of the amoeba, this fact could explain the mild pain reported by the patient, instead of the excruciating pain typical of AK<sup>(2)</sup>.

This study alerts ophthalmologists to consider TSPK as a risk factor for acquiring an *Acanthamoeba* infection and the need to instruct patients in aspects related to the manipulation and cleaning of contact lenses, especially when employed as a treatment for this disease.

This is the first case of keratitis due to *Acanthamoeba* confirmed and reported in Costa Rica. Previous studies in this country only mention finding this amoeba in nasal smears, feces, biosafety devices and dental units. In none of these cases the findings have been associated with cases of keratitis<sup>(14,15,16,17)</sup>.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the project 803-B4-050, Vicerrectoria de Investigación, University of Costa Rica. Giemsa stains of the corneal scraping was carried out by Laboratorios Clínicos Cartín

## References

1. Thygeson, P. Superficial punctate keratitis. *J Am Med Assoc.* 1950; 144, 1544-1549.
2. Khan, N.A. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health *FEMS Microbiol Rev.* 2006; 30, 564-595.
3. Dart, G. J., Saw J. V., Kilvington S. . *Acanthamoeba* Keratitis: Diagnosis and Treatment Update. *American Journal of Ophthalmology*, 2009; 148(4), 487-499.
4. Marciano-Cabral, F., Cabral, G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev*, 2003; 16, 273–307.
5. Jaison, P.L, Cao, Z., Panjwani, N. Binding of *Acanthamoeba* to [corrected] mannose-glycoproteins of corneal epithelium:effect of injury. *Curr Eye Res*, 1998; 17, 770–776.
6. Niederkorn, J.Y., Alizadeh, H., Leher, H., McCulley, J. P. The pathogenesis of *Acanthamoeba* keratitis. *Microbes Infect*, 1999; 1, 437–443
- 7.- Retana-Moreira, L., Abrahams-Sandí, E., Cabello-Vilchez, M. A., Reyes-Batlle, M., Valladares, B., Martínez-Carretero, E., Piñero, E.J., Lorenzo-Morales, J. Isolation and molecular characterization of *Acanthamoeba* and *Balamuthia mandrillaris* from combination shower units in Costa Rica. *Parasitol Res.*, 2014; 113(11), 4117-22. doi: 10.1007/s00436-014-4083-6.
- 8.- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., Lipman, D. J. Basic Local Alignment Search Tool. *J Mol Biol*, 1990; 215, 403-10.
- 9.- Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J. An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite*, 2015; 22:10.
- 10.- Vaddavalli, P. K, Garg, P., Sharma, S., Sangwan, V. S., Rao, G. N., Thomas, R. Role of confocal microscopy in the diagnosis of fungal and *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*, 2011; 118(1):29-35. doi: 10.1016/j.optha.2010.05.018.
11. Boggild, K. A., Martin, S. D., Lee Y. T., Yu, B., Low, E. D. Laboratory Diagnosis of Amoebic Keratitis: Comparison of Four Diagnostic Methods for Different Types of Clinical Specimens. *J Clin Microbiol*, 2009; 47(5), 1314-1318. doi:10.1128/JCM.00173-09.
12. Nagra, P.K., Rapuano, M. D., Cohn, E. J., et al. Thygeson's superficial punctate keratitis: Ten years' experience. *Ophthalmol*, 2004; 111:34-37.
13. Li J, Qiao J, Cai M, Wang L. Laser confocal microscopy findings of Thygeson superficial punctuate keratitis. *Chin Med J*, 2014; 127,597-598.
- 14.-Chinchilla, M., Castro, E., Alfaro, M., Portilla, E. Amebas de vida libre productoras de meningoencefalitis. Primeros hallazgos en Costa Rica. *Rev Latinoam Microbiol*, 1979; 21, 135–142
15. Echandi, L., González, D., Marín, R. Aislamiento de amebas de vida libre capaces de producir meningoencefalitis. *Rev Méd de Costa Rica y Centroamérica LXI*, 1994; 526, 11–14
16. Retana-Moreira, L., Abrahams-Sandí, E. Primer aislamiento de *Balamuthia mandrillaris* en Costa Rica. *Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica*, 2014; 20(3): 8-12.
17. Abrahams-Sandí, E., Retana-Moreira, L., Castro-Castillo, A., Reyes-Batlle, M., Lorenzo-Morales, J. Isolation of *Naegleria fowleri* from hot springs in Costa Rica related to a fatal human case of Primary Amoebic Meningoencephalitis (PAM). *E Infec dis CDC*, 2015; 21(2), 382-383. 

## RESEÑA DE LIBRO

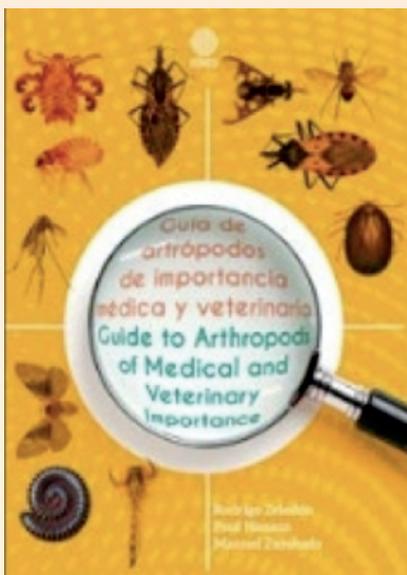
# Guía de artrópodos de importancia médica y veterinaria Guide to Arthropods of Medical and Veterinary Importance

Rodrigo Zeledón, Paul Hanson , Manuel Zumbado

Editorial EUNED, agosto 2016

San José, Costa Rica

Una de las lecciones que aprendí desde mis primeros años de estudiante es que siempre antes de leer un libro es indispensable conocer al autor. No podemos entonces dejar de hablar del Dr. Rodrigo Zeledón, quien junto a los doctores Paul Hanson y Manuel Zumbado, nos vuelve a sorprender, esta vez con una obra que, como bien expresa en la primera página, nos ofrece “*en forma ágil y expedita, alguna información o dato de interés sobre el tema*”, que son los artrópodos de importancia médica y veterinaria.



explicación breve del sistema de clasificación taxonómica de los seres vivos, con el propósito de poder entender la posterior descripción de los diferentes grupos de artrópodos, divididos en clases, órdenes y familias, y la importancia médica de cada género. La lectura se hace fácil y comprensible, y el glosario y la bibliografía que se encuentran al final del libro aportan un valor agregado a la obra. De manera sobresaliente destacan las fotografías a color, todas de gran calidad, que ilustran las características de gran cantidad de las especies descritas.

No es necesario mencionar los puestos de alta relevancia que el Dr. Zeledón ha desempeñado en su larga vida profesional. Miembro de la Academia Nacional de Ciencias desde su creación, lo conocemos muy bien por el resultado de su excelente trabajo científico y docente, y siempre será un referente para todos aquellos que trabajamos o lo hemos hecho en el área de la microbiología y la química clínica.

Este libro está dirigido principalmente a todas las personas que necesitan conocer, de una forma rápida y sencilla, las características generales y la importancia médica de los artrópodos que producen enfermedades o que son capaces de transmitir las, tanto en los humanos como en animales en diversas partes del mundo. Explica de una manera clara los mecanismos de acción en cada caso, usando un lenguaje asequible y ameno sin pasar por alto todos los detalles científicos indispensables que le dan valor a la obra.

Precedida por una excelente introducción que explica los fines y alcances de este trabajo, inicia con una

El libro está escrito en dos idiomas: español e inglés, en un mismo volumen, haciéndolo también disponible a una gran parte de la población de nuestro continente y de otros lugares del mundo que usan el idioma inglés como lengua de estudio.

En una época en la que las enfermedades transmitidas por artrópodos (dengue, zika, chicungunya, entre otras, sin olvidar las siempre presentes enfermedad de Chagas y malaria) se han convertido en un problema de salud pública en muchos países, esta obra pone al alcance de todos una información valiosa y actualizada sobre estos organismos transmisores y diseminadores de los virus, bacterias y parásitos responsables de ellas.

No estamos ante un libro de texto, aunque su lectura es muy didáctica. Se trata de una obra útil para actualizar los conocimientos adquiridos durante los años de formación profesional.

Dr. Gabriel Muñoz-Cernadas  
Correspondencia: gmunozc2012@gmail.com

# Próximos eventos



## 33rd Clinical Virology Symposium (ASM)

7 a 10 de mayo 2017

Savannah, Georgia, U.S.A.

[www.asm.org](http://www.asm.org)

## XXI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

11 a 13 de mayo 2017

Sevilla, España

[www.seimc2017.org](http://www.seimc2017.org)

## Immunology 2017 Annual Meeting of the American Association of Immunologists

12 a 16 de mayo 2017

Washington D.C., U.S.A.

[www.aai.org](http://www.aai.org)

## XVIII Congreso Panamericano de Infectología

16 a 20 de mayo de 2017

Panamá, República de Panamá

[www.apinfectología.com](http://www.apinfectología.com)

## 6° Congreso Mundial de Leishmaniasis 2017

16 a 20 de mayo de 2017

Toledo, España

[www.worldleish2017.org](http://www.worldleish2017.org)

## XLII Congreso Nacional de Infectología y Microbiología Clínica

Asociación Mexicana de Infectología y

Microbiología Clínica A.C.

24 a 27 de mayo 2017

Puebla, México

[www.amimc.org.mx](http://www.amimc.org.mx)

## ASM MICROBE 2017. (American Society for Microbiology annual meeting)

1 a 5 de junio de 2017

New Orleans, Louisiana, U.S.A.

[www.asm.org](http://www.asm.org)

## XVII Jornadas Argentinas de Microbiología

7 a 9 de junio de 2017

Bahía Blanca. Provincia de Buenos Aires, Argentina

[www.aam.org.ar](http://www.aam.org.ar)

## 92nd Annual Meeting of the American Society of Parasitologists

27 de junio a 1 de julio 2017

San Antonio, Texas, U.S.A.

[www.amsocparasit.org](http://www.amsocparasit.org)

## FEMS 2017

Congress of European Microbiologists

## 20° Congreso de la Sociedad Española de Microbiología

9 a 13 de julio 2017

Valencia, España

<http://www.fems-microbiology2017.kenes.com/>

## XX Congreso de la Sociedad Española de Parasitología

19 a 21 de julio de 2017

San Cristóbal de La Laguna, Tenerife, Canarias, España

<http://www.congresoparasitologia.org/es/>

## 68th American Association of Clinical Chemistry Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo

30 de julio a 3 de agosto de 2017

San Diego, California, USA

[www.aacc.org](http://www.aacc.org)

## 7th International Coccidioidomycosis Symposium

10 a 13 de agosto 2017

LKSA – Stanford, California, U.S.A.

<https://med.stanford.edu/cme/courses/2017/icm2017.html>

## 72° Congreso Argentino de Bioquímica Clínica

22 a 25 de agosto 2017

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<http://www.aba-online.org.ar/>

## 9° Congreso Latinoamericano de Micología (IX CLAM)

22 a 25 de agosto 2017

Lima, Perú

[www.upch.edu.pe](http://www.upch.edu.pe)

## American Society for Clinical Pathology Annual Meeting

6 a 8 de setiembre 2017

Chicago, Illinois, U.S.A.

[www.ascp.org](http://www.ascp.org)

## XXIII Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica COLABIOCLI

XI Congreso Uruguayo de Bioquímica Clínica

17 a 20 de setiembre 2017

Punta del Este, Uruguay

<http://www.colabiocli2017uy.com/>

## 10th International Conference on Predictive Modelling in Food

26 a 29 de setiembre 2017

Córdoba, España

<http://www.icpmf10.com/>



## Instrucciones para los autores

Actualizadas a abril de 2017

La Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica (RCMQCCR) se publica cuatrimestralmente. Esta se dedica a la divulgación de trabajos científicos en las diferentes disciplinas de la microbiología, inmunología, parasitología y análisis clínicos en humanos y en animales, así como de las áreas de microbiología de aguas, industrial y de alimentos. Los artículos enviados a la RCMQCCR deben cumplir con las recomendaciones del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas ([www.icmje.org/recommendations/](http://www.icmje.org/recommendations/)) y con las características editoriales para revistas impresas del Catálogo Latindex ([www.latindex.com](http://www.latindex.com)).

Solo se aceptarán para su consideración trabajos originales, en español o en inglés, que serán clasificados en categorías de acuerdo con su naturaleza como trabajos de investigación, casos clínicos, aspectos legales de la profesión, artículos de educación continua, cartas al editor y artículos especiales. Las revisiones bibliográficas serán solicitadas al autor por el editor de la revista. Las cartas al editor se publicarán de acuerdo con el criterio del editor jefe.

El autor principal debe presentar una carta en la que solicite la revisión del artículo para su publicación. En esta se debe consignar el nombre del artículo, el nombre del autor principal y coautores, título profesional o grado académico, el sitio o institución donde se realizó la investigación y su lugar de trabajo actual, el puesto profesional que ocupa en el momento del sometimiento, dirección electrónica y número de teléfono. Este último servirá de vínculo con la revista, pero no será publicado en caso de ser aceptado el trabajo. Esta carta debe venir firmada por el autor y los coautores.

Al someter el original del artículo a revisión, el autor y los coautores deben asegurar que el manuscrito no ha sido previamente publicado y que no está siendo analizado simultáneamente por otra revista. Todos los autores deben firmar la **Declaración de Responsabilidad y Conflicto de Intereses**; de este modo asumen, formalmente, la autoría del artículo y, además, en el caso de trabajos de investigación, observacionales o descriptivos, cumplen con los requisitos de la *Ley Reguladora de Investigación Biomédica* (Ley 9234, publicada en *La Gaceta* N.º 79 del 25 de abril de 2014), y en caso necesario, con la «Normativa para la Aprobación de Estudios Observacionales en los Centros Asistenciales de la Caja Costarricense de Seguro Social». El texto completo de esta normativa se encuentra en la dirección <http://www.cendeiiss.sa.cr/etica/MODIFICACION-Y-ADICIONnnORMATIVA.PDF>. Este documento se enviará por correo electrónico después de haber presentado la solicitud de revisión del artículo y debe ser devuelto a las oficinas del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica. Este debe ser escaneado y enviado a la dirección [revistacmqc@gmail.com](mailto:revistacmqc@gmail.com).

Las opiniones, información y conclusiones emitidas en los artículos publicados, así como la veracidad de los resultados y las citas bibliográficas, son responsabilidad exclusiva del autor y coautores.

Todos los artículos deben ser presentados de forma digital en formato de Word (.doc o .docx), letra Times New Roman 12, interlineado a 2 líneas, justificado, a la dirección electrónica [revistacmqc@gmail.com](mailto:revistacmqc@gmail.com). Las cartas al editor no deben ser mayores de dos páginas. Las tablas, cuadros y fotografías deben presentarse correctamente identificados.

Los artículos de investigación deben presentarse respetando la siguiente estructura: introducción, material y métodos, resultados y discusión. Los artículos especiales, casos clínicos y otros, pueden adaptarse a otros formatos que serán aprobados por el Comité Editorial. Todos los artículos deben ir precedidos por un resumen en español e inglés de no más de 250 palabras y las palabras clave.

1. El título del artículo debe ser conciso, pero informativo, y debe despertar el interés del lector. En el título no se deben emplear abreviaturas.
2. El resumen debe incluir el propósito de la investigación, los materiales y métodos, los resultados y las conclusiones más importantes. Las cartas al editor no llevan resumen ni palabras clave.
3. La introducción debe resumir los antecedentes del estudio y explicar la hipótesis que se pretende analizar. Si usa abreviaturas debe explicar su significado la primera vez que las mencione.
4. Al describir los materiales y métodos, debe explicar correctamente los equipos empleados, métodos y reactivos usados en la investigación. En el caso de estudios con población humana, deben explicarse las características de esta, así como el procedimiento de la obtención del consentimiento informado para la participación en el estudio. La explicación detallada es fundamental para que los resultados puedan ser reproducibles por otro investigador.

5. Los resultados deben ser presentados de una forma cuidadosa y congruente con el texto escrito. Se pueden usar gráficos, cuadros o fotografías para explicarlos.

6. La discusión debe ser referida al trabajo realizado; se deben destacar los hallazgos encontrados y compararlos con otros estudios revisados.

7. Si se incluyen conclusiones, estas deben ser breves y precisas.

8. Las referencias se citarán de acuerdo a los *Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados en revistas biomédicas*, conocido como Normas de Vancouver.

El Comité Editorial se reserva el derecho de aceptar, solicitar modificaciones o rechazar los artículos sometidos a su consideración y su fallo es inapelable.

Los artículos aceptados serán enviados de forma anónima a dos revisores externos especialistas en el tema, quienes, si es el caso, harán las sugerencias necesarias para que se corrija y se publique. Este será devuelto al autor principal y se volverá a someter a revisión.

La revista garantiza la confidencialidad en el proceso de revisión de los artículos y contará con un plazo máximo de 60 días para dar su veredicto.

Los artículos aceptados para su publicación pasarán a ser propiedad intelectual de la revista. Los artículos rechazados se destruyen y no se conservará copia de estos. 



# COR 50

Un coagulómetro automático para todo tipo de laboratorios, con la flexibilidad, la asistencia, la confianza y el servicio de Wiener lab.



Soluplastin cód. 1705005
Fibrinógeno cód. 1705006
APTTTest Ellágico cód. 1705004
Tiempo de Trombina cód. 1705009

- ✓ Equipo pequeño de sobremesada
- ✓ Simple manejo de datos en pantalla touch screen color
- ✓ 60 test/hora para TP
- ✓ Capacidad para 27 muestras a la vez, en un proceso de carga continua
- ✓ Determinaciones coagulométricas, cromogénicas y turbidimétricas
- ✓ Completamente bidireccional



IN VITRO DIAGNOSTICS CENTROAMERICANA S.A.

Pavas-Rohrmoser de la Embajada Americana,  
550 mts. Norte. Edificio # 17  
Apdo.612-1005 B° México, San José-Costa Rica  
Tel: (506) 2231-3270 . Fax: 2231-2949



[www.wiener-lab.co.cr](http://www.wiener-lab.co.cr)  
[wiener.lab@racsa.co.cr](mailto:wiener.lab@racsa.co.cr)