



REVISTA

DEL COLEGIO DE MICROBIÓLOGOS Y QUÍMICOS CLÍNICOS DE COSTA RICA

Volumen 23, Nº 2 • Mayo - agosto, 2017 • ISSN:22153713

Mayo - agosto

CONTENIDO

Artículos

- Semántica y fonética de las terminologías de laboratorio, ¿Utilizamos los términos correctos?
- Aseguramiento y control de calidad en la producción de medios de cultivo microbiológicos
- Leucemias agudas: análisis epidemiológico de los pacientes referidos al servicio de Hematología del Hospital Maximiliano Peralta Jiménez de Cartago
- Hemoglobina glicada falsamente elevada en paciente diabético con hemoglobina Raleigh.
- Tuberculosis abdominal: un reto diagnóstico. A propósito de un caso clínico
- Caso importado de malaria por *Plasmodium vivax* detectado en un centro asistencial de la CCSS
- *Plasmodium falciparum* en Costa Rica. Reporte de un caso

Cartas al editor

- El paludismo, la quinina y la cinchona. Algo para recordar
- Primer Simposio del Grupo Costarricense de Medicina Transfusional



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.

Correspondencia:
revistacmqc@microbiologos.cr

Diagramador:
Jorge Vargas González

ISSN: 2215-3713

Derechos reservados ©2017

JVDISEÑO

jv.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

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

Artículos

- 41 Semántica y fonética de las terminologías de laboratorio, ¿Utilizamos los términos correctos?, *Gustavo Villegas-Bermúdez, Laboratorio Clínico Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, CCSS*
- 45 Aseguramiento y control de calidad en la producción de medios de cultivo microbiológicos, *Ana Cristina Monge-Montero, Instituto de Investigaciones en Salud, Universidad de Costa Rica.*
- 51 Leucemias agudas: análisis epidemiológico de los pacientes referidos al servicio de Hematología del Hospital Maximiliano Peralta Jiménez de Cartago, Caja Costarricense de Seguro Social, *Emmanuel Molina-Solano, Lariza Acuña-De La Peña, Xinia Gómez-Montero, Laboratorio Clínico Hospital Max Peralta, CCSS.*
- 57 Hemoglobina glicada falsamente elevada en paciente diabético con hemoglobina Raleigh, *Lorena Isabel Valverde-Bolaños y Evelyn González-Villalobos, Laboratorio Clínico Hospital San Rafael, Alajuela, CCSS*
- 62 Tuberculosis abdominal: un reto diagnóstico. A propósito de un caso clínico, *Adriana Arias-González, Médico Asistente Especialista en Anatomía Patológica, CCSS, Alberto Josué Alfaro-Murillo, Residente de Medicina Interna, Universidad de Costa Rica, CCSS*
- 67 Caso importado de malaria por *Plasmodium vivax* detectado en un centro asistencial de la CCSS, *Jeyson Alvarez-Campos, Laboratorio Clínico, CCSS, Karla Castro-Duran, Medicina y Cirugía, CCSS, Patricia Díaz-Madrugal, Laboratorio Clínico, CCSS, Nidia Calvo-Fonseca, Centro Nacional de Referencia en Parasitología, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA)*
- 72 *Plasmodium falciparum* en Costa Rica. Reporte de un caso. *Xinia Porras-Sánchez, Rodrigo Cruz-Jiménez, Laboratorio Clínico, Hospital Clínica Bíblica, San José*

Cartas al editor

- 77 El paludismo, la quinina y la cinchona. Algo para recordar, *Luis F. Rojas-Solano*
- 80 Primer Simposio del Grupo Costarricense de Medicina Transfusional, *César Cerdas-Quesada*
- 81 • Próximos eventos
- 82 • Instrucciones para los autores

Nota del editor

Un aspecto fundamental que se debe tomar en cuenta durante la redacción de un trabajo científico, además del dominio del tema, es la claridad con que se expresa el autor y el uso de los términos adecuados en el desarrollo del mismo.

El Dr. Gustavo Villegas Bermúdez, a quien agradecemos su colaboración como miembro del Comité Editorial de esta revista hasta el pasado número, nos presenta un excelente artículo sobre el uso de la terminología correcta para denominar las pruebas de laboratorio. Es la primera vez, si mal no recuerdo, que en esta revista se publica un artículo que nos instruye en este tema que, no dudo, será de gran utilidad para todos los que estamos involucrados en las ciencias del laboratorio clínico.

Desde hace muchos años, uno de los elementos más importantes en el laboratorio es el aseguramiento y control de calidad en los diferentes procesos que en él se realizan, a lo cual ha contribuido en gran medida las conocidas normas ISO y de organismos acreditadores de reconocido prestigio. El artículo de la Dra. Ana Cristina Monge detalla los diferentes procesos involucrados en el control de calidad de los medios de cultivo utilizados en el laboratorio de Bacteriología, indispensable para alcanzar el aislamiento de los microorganismos presentes en las muestras recibidas para su análisis.

La procedencia geográfica de los casos de leucemia referidos al Hospital Max Peralta en Cartago es el tema del tercer artículo, con un buen análisis de los datos aportados comparados con los resultados obtenidos en diferentes centros médicos. Este estudio de carácter epidemiológico nos presenta la situación actual de esa dolencia en esta provincia.

Los siguientes dos artículos son casos clínicos que nos tienen que llamar la atención por lo poco frecuente de

estas condiciones: la presencia de hemoglobina Raleigh en un paciente diabético, que produce una elevación falsa en la determinación de HbA1c, y un caso de tuberculosis extrapulmonar que fue diagnosticado post mortem. Ambos artículos detallan cuidadosamente los estudios realizados para llegar al diagnóstico de esas patologías.

Hace seis años, la Organización Mundial de la Salud en el marco de la conmemoración del Día Mundial de la Malaria, informó de que cada 60 segundos moría una persona por malaria en el mundo, de los cuales el 85 por ciento eran niños de menos de 5 años y que la mitad de la población mundial estaba en riesgo de padecer la enfermedad. Cinco años después, en el año 2016, los datos han disminuido casi a la mitad, o sea, una muerte cada dos minutos por esta enfermedad. Sigue siendo una cifra alarmante.

Los últimos artículos de este número son dos casos clínicos de malaria, uno producido por *Plasmodium vivax* y otro por *Plasmodium falciparum*, ambos provenientes del extranjero, y que describen con mucha claridad tanto el cuadro clínico como las pruebas de laboratorio utilizadas en cada caso, comentando el estado actual de la malaria en el mundo y la situación de nuestro país con respecto a esta parasitosis.

El artículo del Dr. Luis F. Rojas Solano, exprofesor de Bioquímica de la Universidad de Costa Rica, que aparece en la sección de Cartas al Editor, nos relata de forma anecdótica la presencia de esta enfermedad en América y el tratamiento utilizado por nuestros antepasados para combatir esta enfermedad y su valioso aporte a la medicina mundial. [🔗](#)

Dr. Gabriel Muñoz-Cernadas
Editor jefe

Semántica, y fonética de las terminologías de laboratorio ¿Utilizamos los términos correctos?

Semantics and phonetics of the terminologies of laboratory, Do we use the correct terms?

Gustavo Villegas-Bermúdez¹

Resumen:

En la práctica clínica se tiende al uso frecuente de términos incorrectos para designar algunas de las pruebas de laboratorio. Este uso se deriva por lo general de la confusión de pares de términos relacionados entre sí pero con diferentes significados. Ejemplos de términos utilizados de forma incorrecta o dudosa son: *glicemia-glucemia*, *hemoglobina glicosilada*, *fósforo*, *microalbuminuria*, *osmolaridad* y *urea*. Por otra parte, a nivel fonético se observan errores de pronunciación de los nombres científicos en latín de los microorganismos. Dentro de los errores más frecuentes se encuentran la incorrecta pronunciación de la letra *ch* como en *Escherichia* y la letra *ll* como en *mellitus*.

Palabras clave: Glucemia, glicemia, hemoglobina glicada, hemoglobina glicosilada, fósforo, fosfato, osmolaridad, osmolaridad, albuminuria, microalbuminuria, proteinuria, microproteínas, urea, nitrógeno ureico, semántica, fonética, terminologías.

Abstract:

In clinical practice, the use of incorrect terms to designate some laboratory test is frequent. This usage is commonly derived from the confusion of pairs of terms related to each other but with different meanings. Examples of incorrect or uncertain terms are: *glycemic*, *glycosylated hemoglobin*, *phosphorus*, *microalbumin*, *osmolality and urea*. On the other hand, at phonetic level, errors of latin pronunciation of the scientific names of the microorganisms are observed. Within the most frequent errors is the incorrect pronunciation of the letter *ch* as in *Escherichia* and the letter *ll* as in *mellitus*.

Key words: Glycemic, glycated hemoglobin, glycosylated hemoglobin, phosphorus, phosphate, osmolality, osmolarity, microalbuminuria, proteinuria, urea, urea nitrogen, semantics, phonetics, terminology.

Introducción

El trabajo en laboratorio clínico y en general en las áreas de la salud exige que los profesionales cuenten con las habilidades técnicas suficientes y el conocimiento teórico y aplicado en las diferentes áreas del análisis clínico. Además, dada la tendencia a la integración de las diferentes disciplinas de Ciencias de la Salud también es necesario que el personal posea competencias comunicativas y habilidades lingüísticas para una interacción más eficaz y productiva.

En los ambientes hospitalarios con frecuencia se observa un uso inadecuado de ciertas terminologías para referirse a pruebas de laboratorio. Esto se pone en evidencia tanto en las solicitudes de exámenes como en los informes escritos de resultados de análisis. Por otra parte, en cuanto a la dicción de la terminología médica para designar a los microorganismos, también es frecuente escuchar defectos en la pronunciación en seminarios, clases magistrales y en la práctica clínica. El objetivo de este trabajo consiste en aclarar algunas de las principales dudas en cuanto a la semántica y la fonética de terminologías de uso frecuente en el trabajo en el laboratorio clínico.

Recibido el 30/05/2017, aceptado para su publicación el 06/06/2017
I. Laboratorio Clínico Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz
Herrera, CCSS
Correspondencia: gvillegasb@hnn.sa.cr

Glicemia o glucemia

La palabra glicemia es un cultismo formado por las raíces griegas *glyk-* γλυκύς (dulce) y *-haimiā* -αίμα (sangre)^{1,2,3}. Entonces se entiende por glicemia la glucosa en sangre. En los países de Latinoamérica se utiliza por lo general el vocablo glicemia. Sin embargo, en España, la forma glucemia es de uso generalizado en los medios hospitalarios¹. En efecto, el diccionario de la Real Academia Española (DRAE) no registra el término glicemia sino más bien glucemia⁴. La palabra glucemia proviene del término francés *glycémie* con u influida por glucosa^{2,4}. Esto se debe a que “determinados vocablos griegos fueron prestados desde muy pronto al latín. Antes de que el alfabeto latino adoptara la ypsilon griega, si la palabra tenía ypsilon (sonido intermedio en griego entre i y u), se adaptaba según siglos, unas veces con u y unas veces con i. En el caso de la raíz *glyk-* se adaptó al latín con u”¹. Así, los franceses, siguiendo la tradición latina crearon *glucose* y de ahí proviene la palabra glucosa en español. Al crear palabras compuestas usando la tradicional etimología de la raíz en versión latina se dice *-gluc* y es correcto; por otro lado, si utilizamos la raíz griega se dice *-glycyl* y también es correcto.

En síntesis, cualquiera de las formas glicemia o glucemia es correcta; el término varía según el contexto geográfico en el que se utilice.

Hemoglobina glicada o hemoglobina glicosilada

Diferencia entre glicosilación y glicación

La glicosilación es una modificación post-traslacional mediada por enzimas, en la cual una molécula de carbohidrato determinada es agregada a una región preterminada de la proteína. Consiste en un mecanismo controlado que confiere ciertas propiedades a las células. Por otra parte, la glicación (a menudo llamada erróneamente glicosilación) es un mecanismo que ocurre al azar en el torrente sanguíneo. Los extremos reductores de azúcares libres (glucosa, fructosa, galactosa) se unen covalentemente a proteínas, creando productos glicosilados. La glicación daña la estabilidad y la función de las proteínas y se relaciona con muchos procesos patológicos como por ejemplo diabetes, envejecimiento, aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas y fallo renal crónico^{5,6}.

La glicación es la adición no enzimática de un residuo de azúcar a grupos amino de proteínas^{6,7}. La hemoglobina adulta (Hb) consiste de HbA (97% de la total), HbA2 (2.5%) y HbF (0.5%). La HbA está constituida por cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas α y dos cadenas β . El análisis cromatográfico de HbA identifica varias cadenas menores de hemoglobina, llamadas HbA1a, HbA1b,

y HbA1c, las cuales se denominan en conjunto HbA1, hemoglobinas rápidas (porque migran más rápidamente que la HbA en un campo eléctrico), glicohemoglobinas, o hemoglobinas glicadas. La Comisión Conjunta sobre Nomenclatura Bioquímica de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) recomienda el uso del término glicación para describir este proceso. Por lo tanto, aunque los términos glicosilada o glucosilada han sido usados ampliamente en la literatura, se prefiere utilizar el término glicada^{5,7}.

Fosfato o fósforo

A pesar de que el fósforo y el fosfato se encuentran relacionados constituyen dos entidades diferentes. El fósforo es el elemento de la naturaleza con número atómico¹⁵. Por otra parte, el fosfato es un compuesto natural, principalmente en forma de sales que contienen fósforo y otros minerales.

El adulto contiene cerca de 600 g o aproximadamente 20 moles de fósforo en forma de fosfatos inorgánicos y orgánicos, de los cuales 85% se encuentran en el esqueleto, y el resto se ubica principalmente en tejido blando. El plasma contiene fosfato tanto inorgánico como orgánico. El fosfato inorgánico existe como aniones de fosfato monovalente (H₂PO₄⁻) y divalente (H₂PO₄²⁻)⁷. La forma inorgánica puede ser encontrada como amortiguador de fosfato sanguíneo, en la cascada de fosforilación y en el crecimiento celular y la forma orgánica se puede hallar en el ATP, NADP, fosfolípidos de membrana, ácidos nucleicos, fosfoproteínas y en el crecimiento celular⁹.

En cuanto análisis clínicos de rutina es importante aclarar que el analito que se mide es el fosfato inorgánico^{7,9}. Entonces, con fines de informes de resultados de análisis se debe reportar fosfato y no fósforo, como generalmente suele ocurrir en muchos de los laboratorios.

Microalbúmina/albúmina urinaria-microproteínas/proteínas urinarias

La albúmina constituye la proteína plasmática más abundante. Es el componente principal de la mayoría de los fluidos biológicos, incluyendo el líquido intersticial, líquido cefalorraquídeo, orina y líquido amniótico. Solamente cerca de 10 mg/d de albúmina son secretados en orina normalmente. Pequeños incrementos y una excreción de albúmina en orina de más de 30 mg/d son indicadores de estadios tempranos de daño tubular o glomerular. A esta condición se le ha llamado tradicionalmente *microalbuminuria* lo que generó que a la prueba de laboratorio se le llame *microalbúmina*. En realidad, el prefijo *micro* se refiere a la excreción de pequeñas cantidades y no a una forma más pequeña de la albúmina⁷. De esta manera, el término *microalbuminuria*

resulta erróneo, debido a que la albúmina medida es idéntica a la forma que circula en el plasma y el término *microalbuminuria* se refiere a la pérdida incrementada de albúmina urinaria⁷. Además, al parecer, el uso del término microalbúmina en la práctica clínica también se relaciona con la mayor sensibilidad de las técnicas utilizadas para medir albúmina en orina.

Por otra parte, el uso del término *microproteínas* en orina también parece estar relacionado con la sensibilidad analítica mayor del método para medir proteínas urinarias. De forma análoga, las microproteínas no constituyen proteínas diferentes a las circulantes en el plasma ni proteínas de un tamaño más pequeño.

Finalmente, estas pruebas deben reportarse en el informe de resultados de laboratorio como albúmina en orina/urinaria y proteínas en orina/urinarias.

Osmolalidad versus osmolaridad

La determinación de osmolalidad en plasma y orina es de utilidad en la evaluación de desórdenes ácido-base y de electrolitos. La comparación de osmolalidad plasmática y urinaria puede determinar la idoneidad y el estado de la regulación del agua por medio de los riñones en situaciones de alteraciones severas de electrolitos⁷.

El término *osmolalidad* expresa concentraciones relativas a masa de solvente (una solución 1 osmolal se define por contener 1 Osmol/kg de H₂O), mientras que el término *osmolaridad* expresa concentraciones por volumen de solución (una solución osmolar es definida por contener 1 Osmol/L de solución)^{7,9,10}. La osmolalidad (Osmol/Kg de H₂O) es una expresión termodinámicamente más exacta porque las concentraciones de solución expresadas con base en el peso son independientes de la temperatura, mientras que aquellas basadas en el volumen varían con respecto a la temperatura. De esta forma, aunque el término osmolaridad es usado en la literatura médica y en la práctica clínica, la osmolalidad es lo que el laboratorio clínico mide⁷, por lo cual, el reporte de resultados de laboratorio debe expresar *osmolalidad*.

Nitrógeno ureico y urea

Aunque el nitrógeno ureico en sangre (BUN, por sus siglas en inglés) continúa siendo usado en las solicitudes de la prueba de nitrógeno ureico en suero, este término es incorrecto y obsoleto porque la urea raramente es analizada en sangre sino que se mide en plasma o suero^{7,11}. La costumbre de reportar y expresar resultados de urea en unidades de nitrógeno ureico parece estar fuertemente arraigada en los Estados Unidos, aunque el sistema SI recomienda el uso de urea expresado en mmol/L. De esta manera, se debe tener presente el factor de conversión de urea a nitrógeno ureico. Ya que 60 g de urea contienen 28 g de nitrógeno, el factor para convertir unidades de

masa de urea a unidades de nitrógeno ureico es 0.467, y 2.14 para convertir nitrógeno ureico en urea^{7,11}.

Fonética latina de nombres científicos

Históricamente se ha utilizado la nomenclatura científica o *nomenclatura binomial* para la asignación de los nombres de los microorganismos. Esta nomenclatura utiliza dos nombres latinizados o binomio compuesto por el nombre del género y su epíteto específico. El nombre del género siempre se escribe con letra mayúscula inicial y siempre es un sustantivo. El nombre de la especie se escribe con letra minúscula y suele ser un adjetivo¹².

Tradicionalmente dentro de la formación académica de los microbiólogos en Costa Rica se hace énfasis en la correcta escritura de los nombres científicos de los diferentes microorganismos que se estudian. Incluso en las evaluaciones, los errores ortográficos son castigados con la pérdida total del puntaje del ítem evaluado. No obstante, poca o nula importancia se le ha dado a la pronunciación de los nombres de géneros y especies. Entonces, es frecuente escuchar en la práctica clínica fallos en cuanto a la pronunciación de la nomenclatura científica de los microorganismos. Aunque no existen estudios específicos sobre el tema en nuestro país, en el trabajo *Habilidades lingüísticas sobre nomenclatura microbiana en profesionales de la salud* desarrollado en La Habana, Cuba, se observó que el 91% de las personas entrevistadas presentaban problemas de dicción¹³.

Uno de los errores más frecuentes en nuestro medio se observa en la pronunciación de la letra *ch* la cual en latín se pronuncia *k* debido a que la *h* es muda y la *c* se pronuncia *k*^{14,15}. Por ejemplo, es frecuente escuchar *Escherichia en lugar de /eskerikia/*. Otro error relativamente frecuente ocurre en la pronunciación de la letra *ll* la cual se debe pronunciar como *l* larga, no fuerte. Por ejemplo, en el caso de la diabetes se pronuncia */mel-litus/* y no *mellitus*. Algunos ejemplos de pronunciación en latín de microorganismos se muestran en la tabla 1.

Conclusiones

El uso incorrecto de algunos términos de laboratorio no solamente ocurre a nivel local o nacional sino que en la literatura se puede observar una prevalencia casi universal. A pesar de la utilización errónea de algunos términos en la práctica clínica o académica a través del tiempo, la mejora continua nos permite hacer cambios, rectificar y optimizar el uso de la terminología tanto a nivel escrito como oral. Esto a su vez nos permitirá contar con mejores competencias lingüísticas como profesionales en ciencias de la salud. Para iniciar, un buen ejercicio recomendado sería comenzar por revisar los reportes impresos de análisis de cada laboratorio y determinar si los nombres de las pruebas reportadas son correctas o no.

Tabla 1. Pronunciación de nombres científicos de algunos microorganismos¹⁶

Escritura	Pronunciación correcta
<i>Escherichia coli</i>	/eske'rikia 'koli/
<i>Trichomonas</i>	/triko'monas/
<i>Sporotrix schenckii</i>	/spo'rotriks s'kenki/
<i>Diabetes mellitus</i>	/dia'betes mel-'litus/
<i>Bartonella</i>	/barto'nel-la/
<i>Haemophilus influenzae</i>	/ae'mofilus in'fluensae/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/pseudo'monas aeru'guinosa/
<i>Shigella</i>	/tifi'guel-la/

Referencias

- Diccionario etimológico español en línea [Internet]. Chile: www.dechile.net; 2000 [actualizado 24 may 2017, citado 24 may 2017]. Disponible en: <http://etimologias.dechile.net/?glicemia>
- Cortés F, Ureña J. Dicciomed.eusal.es. Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico. [Internet]. Madrid: Ediciones Universidad de Salamanca; 2007 [actualizado en 2015; citado 24 may 2017]. Disponible en: <http://dicciomed.eusal.es/palabra/glucemia>
- Academia Nacional de Medicina de Colombia. Diccionario académico de la medicina. [Internet]. Bogotá: Academia Nacional de Medicina de Colombia; [actualizado 23 nov 2013; citado 24 may 2017]. Disponible en: <http://dic.idiomamedico.net/glucemia>
- Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 23ª Edición. [Internet]. Madrid: Real Academia Española; 2017 [citado el 24 may de 2017]. Disponible en: <http://dle.rae.es/?id=JGDiddR>
- New England BioLabs Inc. What is the difference between glycosylation and glycation? [Internet]. EEUU: New England BioLabs Inc.; [actualizado en 2017; citado el 24 may 2017]. Disponible en: <https://www.neb.com/faqs/2015/04/10/what-is-the-difference-between-glycosylation-and-glycation>
- Younus H, Anwar S. Prevention of non-enzymatic glycosilation (glycation): Implication in the treatment of diabetic complication. Int J Health Sci [Internet]. 2016 [citado: 24 may 2017]; 10(2): 261-277. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4825899/>
- Burtis C, Ashwood E, Bruns D. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis. 5ª Edición. EEUU: Elsevier; 2012.
- Terra MA, Kanaan S. Bioquímica clínica. São Paulo: Editora Atheneu/Universidade Federal Fluminense; 2008.
- Motta V. Bioquímica clínica para o laboratorio. 5ª Edição. Rio de Janeiro: MEDBOOK Editora Científica Ltda.; 2009.
- Lab Test Online [Internet]. EEUU: Asociación Americana de Química Clínica; 2001 [actualizado 30 Nov 2013; citado 24 may 2017]. Disponible en: <http://www.labtestsonline.es/tests/Osmolality.html?tab=5>
- Higgins C. Urea and Clinical Value of Measuring Blood Urea Concentration.[Internet]. Denmark: Radiometer Medical; 2016 [citado 24 may 2017]. Disponible en: <https://acutecaretesting.org/en/articles/urea-and-the-clinical-value-of-measuring-blood-urea-concentration>
- Tortora G, Funke B, Case C. Introducción a la Microbiología. [Internet]. 9ª Edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2007. [Citado 24 may 2007]. Disponible en: https://books.google.co.cr/books?id=Nxb3iETuwpIC&pg=PA287&lpg=PA287&dq=nomenclatura+binomial+reglas&source=bl&ots=z95orM8VIG&sig=jsHXr-S1M9N8pmtQZx911EWsUy8&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=nomenclatura%20binomial%20reglas&f=false
- Arpajón Y, Rodríguez M, Sosa AL. Habilidades lingüísticas sobre nomenclatura microbiana en profesionales de la salud. Educ Med Sup [Internet]. 2014 [citado 24 may 2017]; 28 (2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21412014000200002
- Tormo R. Plantas y hongos. [Internet]. España: Universidad de Extremadura; 2014 [actualizado 29 ago 2014; citado 24 may 2017]. Disponible en: http://www.plantasyhongos.es/taxonomia/escritura_pronunciacion.htm
- Álvarez FJ. Corrijamos errores básicos de pronunciación latina. España. 2013 [citado 26 may 2017]. Disponible en: <https://www.delcastellano.com/errores-pronunciacion-latin/>
- Promotora Española de Lingüística. Alfabético fonético internacional. Madrid. 2013 [citado 29 may 2017]. Disponible en: <http://www.proel.org/index.php?pagina=mundo/fonetico>

Aseguramiento y control de calidad en la producción de medios de cultivo microbiológicos

Assurance and quality control in the production of microbiological culture media

Ana Cristina Monge-Montero¹

Resumen:

El aseguramiento y control de calidad de los medios de cultivo que se utilizan para las labores de microbiología, debe ser eje central para establecer la calidad de todos los análisis que se ligan a su utilización. Se hace necesario asegurar no sólo la esterilidad de los mismos, sino también un funcionamiento adecuado a su concepción, de modo reproducible, trazable y estandarizado. Es así, como existen muchas metodologías referenciadas, de las cuales se debe seleccionar la más idónea para los servicios de análisis que se brindan. Este artículo selecciona algunas metodologías estandarizadas de reciente publicación que podrían contribuir con las actividades que se realizan en los laboratorios microbiológicos tanto a nivel clínico como no clínico. Estas metodologías buscan estandarizar a nivel mundial los procesos relacionados a las labores de análisis, de este modo fomentar la reproducibilidad de los resultados. Si bien es cierto, no son de aplicación obligatoria, permiten mejorar la calidad de los ensayos que se realizan y por ende deben contemplarse como una actualización profesional para el gremio.

Palabras clave: Medios de Cultivo, control de calidad.

Abstract:

Assurance and quality control of culture media used in microbiology, must be a central axis to establish the quality of all analysis that are linked to its use. It is necessary to ensure not only the sterility of them, but also a performance suitable to its conception, being reproducible, traceable and standardized. So, as there are many referenced methodologies, it must be selected the most suitable for analytical services provided. This article selects some standardized methodologies recently published that could help with the activities carried out in microbiological laboratories, both clinical and non-clinical level. These methodologies seek to standardize global processes related to the work of analysis, promoting the reproducibility of the results. While it is true, they are not mandatory, they allow to improve the quality of trials that are performed and therefore should be considered as a professional updating for the guild..

Key words: Culture media, quality control

Los medios de cultivo, a través de sus diferentes composiciones han permitido realizar el crecimiento y aislamiento de diferentes microorganismos, desde la identificación de patógenos de importancia en salud pública, detección de microorganismos que causan deterioro, cuantificación de microorganismos en instrumentos o medicamentos que pueden afectar la salud de los consumidores, determinaciones de citogenética, mantenimiento de bancos de células, hasta el crecimiento de microorganismos para ser utilizados en procesos biotecnológicos y la producción de vacunas y/o antibióticos ^(1,2).

Para lograr asegurar que un medio de cultivo es apto para ser utilizado, no debe asegurarse únicamente su esterilidad; se debe asegurar que el mismo es funcional para lo que se diseñó y formuló. Asimismo, se debe asegurar que todo el proceso se esté llevando a cabo dentro de las condiciones ambientales adecuadas. En la preparación de los medios de cultivo se deben siempre seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio y las indicaciones de los fabricantes, tanto dentro de la seguridad ocupacional como de la responsabilidad ambiental ⁽³⁾.

Aseguramiento de la calidad

Para la producción y preparación de los medios de cultivo se requiere controlar ciertas condiciones, como en cualquier proceso de producción industrial. Para lo mismo se debe seguir una lista de chequeo que incluya aspectos relacionados con la documentación, envase, fechas de producción y vencimiento, y otros datos que permitan su clasificación.

La norma ISO 11133:2015 ⁽⁴⁾, establece muchas de las pautas a seguir para el aseguramiento de la calidad. Se establecen los registros de preparación y control de condiciones, para poder realizar una trazabilidad de los productos. Se recomienda lograr una trazabilidad de cada material utilizado, lote de esterilización y cristalería utilizada. En algunos casos, se pueden solicitar certificados que indiquen los resultados de las pruebas de desempeño junto con los criterios de aceptación.

Para la preparación de medios de cultivo, se requiere una serie de insumos de laboratorio como equipos e instrumental, el cual debe cumplir ciertos requisitos de mantenimiento y calibración.

En el caso de las autoclaves, se deben utilizar indicadores biológicos para asegurar una correcta esterilización del material. Las autoclaves pueden presentar problemas de funcionamiento relacionados con los flujos de calor dentro del tanque, que pueden no ser evidentes con el uso únicamente de los indicadores biológicos, razón por la cual deben encontrarse en un plan de mantenimiento

preventivo y de verificación de su buen funcionamiento. La esterilización por medios químicos como gas, no se recomienda por el riesgo de residuos tóxicos en ciertos tipos de medios de cultivo.

El tiempo de esterilización depende de factores como la forma y tipo de envase, el tipo de medio de cultivo contenido, el volumen y la presencia de carbohidratos. El tiempo de esterilización de medios de cultivo estandarizado a 15 minutos está definido al utilizar botellas de 1 litro o menos de volumen. Envases de mayor tamaño, requieren tiempos más largos, por lo que se debe consultar la recomendación con el fabricante del equipo. En el caso de existir carbohidratos sensibles, no se debe exponer a altas temperaturas por más de 45 minutos ^(1,5).

Dentro de los problemas que se pueden asociar a un sobrecalentamiento se citan: alteración del pH, disminución en las propiedades de gelificación del agar, formación de precipitados anormales, caramerilización u oscurecimiento, pérdida de nutrientes y pérdida de propiedades selectivas o diferenciales. Algunos medios de cultivo no deben someterse a procesos dentro de una autoclave, puesto que se dañan sus componentes, tal es el caso de medios como Agar Hektoen, Agar Salmonella-Shigella y del Agar Bilis Rojo Violeta. En el caso de la sangre o huevos, que se deterioran si son sometidos a procesos de calor de esterilización, se debe asegurar la esterilidad al cumplir una serie de prerrequisitos en su origen, donde se compruebe que están libres de posibles inhibidores de crecimiento microbiano ^(1,5).

Puede haber problemas en la preparación de medios como los siguientes ⁽¹⁾:

- Precipitados: Podría darse por fundir en repetidas ocasiones un mismo medio solidificado, o por mantener por largos períodos de tiempo a altas temperaturas el medio fundido.
- Solubilidad incompleta: Se puede deber a un mezclado incompleto, el uso de agua de tubería, una mala calidad del medio o por una inadecuada fundición del medio previo a su esterilización.
- Medios suaves o con mala gelificación: Podría deberse a una cantidad insuficiente de Agar, mala mezcla, mala medición de masas al diluir en un volumen de agua, una caída del pH por hidrólisis de ácidos, efecto de dilución del agar por agregar demasiado inóculo en el caso del método de vaciado o por hidrólisis al calentar por mucho tiempo o refundir medios. Periódicamente, es recomendable, revisar los cultivos ambientales de las áreas de producción de medios de cultivo y así poder evitar riesgos de contaminaciones cruzadas.

En los casos que se prepare cristalería para cultivos celulares, es un requisito, realizar periódicamente una prueba de inhibidores y residuos traza, que puedan afectar el crecimiento celular.

Almacenamiento de medios de cultivo

Existen varios métodos que permiten establecer la vida útil de los medios de cultivo producidos. En casos específicos es necesario realizar estas validaciones.

Es una buena práctica en el caso de los tubos de ensayo, señalar con un marcador el volumen de algunos, antes de colocarlos en refrigeración, si el volumen se ha disminuido en un 10%, se deben descartar ^(6,4).

Se recomienda almacenar a una temperatura de 2°- 8°C, alejados de la luz directa. Algunos medios de cultivo pueden contener componentes que se alteren con la luz ultravioleta ⁽⁴⁾.

Se recomienda que los medios líquidos preparados tengan una fecha de vencimiento de alrededor de 6 meses (la norma ISO 11133:2014, expone un máximo de 3 meses sin suplementar y de 1 mes con el suplemento). Mientras que los medios sólidos preparados, tendrían una fecha de vencimiento alrededor de las 2 semanas (ISO 11133:2015 ⁽⁴⁾, expone que por el máximo de una semana). En el caso de los medios deshidratados, se recomienda conservar un recipiente no abierto no más de 2 años a temperatura ambiente ⁽⁶⁾. Una vez abierto, se recomienda utilizarlo dentro de los 6 meses siguientes, para así evitar el deterioro, así como revisar parámetros de claridad, consistencia, apariencia y color ⁽⁶⁾. Se recomienda que si el medio de cultivo se adquiere listo para ser utilizado, se debe contemplar su uso en menos de un año ^(6,7). Se recomienda que una vez fundido un medio de cultivo para utilizarse, no se debe mantener más de 4 horas sin utilizar, puesto que aumentan las posibilidades de contaminación y degradación ^(6,4).

Control de calidad del producto

El Control de Calidad asegura que el producto puede utilizarse con seguridad de que esta estéril y que funciona para lo que fue concebido. Debe existir una política de liberación de lotes aprobados y de custodia de lotes por aprobar.

Un aspecto vital a controlar es la calidad del agua. La farmacopea estadounidense ⁽⁸⁾, establece que al agua para ser usada en la preparación de medios de cultivo, debe ser purificada (destilada o desionizada). No debe contener sustancias que afecten el crecimiento celular, como por ejemplo hipoclorito de sodio.

A su vez, la norma ISO 11133:2015 /, establecen ciertos parámetros necesarios para el agua a ser utilizada en la producción de medios de cultivo. Dentro de los parámetros que se deben controlar esta la conductividad (o resistividad), el pH, el carbón orgánico total, el cloro residual total y conteo de microorganismos heterótrofos. En el caso del pH y la conductividad, se recomienda que se analice con cada uso, esto puesto que permiten detectar rápidamente cambios en el agua que puedan alterar la producción de medios de cultivo. Se establece utilizar una conductividad menor a 25 µSiemens por centímetro cuadrado, y el pH entre 5.5 y 7.5. Es por tanto necesario poder asegurar una Agua Tipo 1 ^(4,5,6,7).

Según las recomendaciones del Standard Methods of Water and Wastewater ⁽⁴⁾, se propone realizar periódicamente un análisis externo de determinación de trazas de antibióticos, pesticidas y plaguicidas, y metales pesados, puesto que los mismos pueden interferir en el crecimiento de una serie de microorganismos.

En cuanto a la calidad bacteriológica del agua utilizada en la preparación de medios de cultivo, se recomienda que la contaminación microbiana no exceda las 103 UFC / ml, y preferiblemente que sea menor a las 102 UFC / ml ^(4,6). Esta medición se debe realizar con un método validado ⁽⁶⁾.

Siempre se debe preferir agua destilada fresca, no obstante, existen casos donde es permisible utilizar agua desionizada o de osmosis inversa. En lugares donde existan altos niveles de cloración se deben utilizar mecanismos como filtros de carbón para eliminar o neutralizar el cloro residual antes de la destilación. Mientras que en lugares donde exista una dureza importante del agua, se recomienda la utilización de pre tratamientos como suavizadores de agua, tanto para la conservación de los equipos de purificación como para la calidad del agua producida.

El Control de Calidad de los medios de cultivo se basa en varias actividades, dentro de las cuales se detallan las siguientes:

a. Inspección física

Se deben realizar una lista de chequeo de las características necesarias para que cada producto cumpla con el estándar de calidad de acuerdo al tipo de medio de cultivo y a su presentación. Se deben evaluar aspectos como la decoloración, cambios de color o hemólisis (en el caso de los medios de cultivo cuyo componente sea sangre), la formación de cristales, la fuerza de gelificación, la variabilidad de la cantidad de medio de cultivo en cada envase, la distribución desigual de medio de cultivo en las placas de Petri, superficies inclinadas, con burbujas, con coágulos de medio, con hoyos o con un llenado

parcial de la placa, la deshidratación del medio de cultivo, la cual se refleja a través de superficies secas, o resquebrajadas, la contaminación evidente por hongos filamentosos, levaduras o por otros microorganismos, y otras. Si alguna de estas condiciones se presenta, lo recomendable es no utilizar el medio de cultivo ^(5,7).

b. Pruebas de esterilidad

Las pruebas de esterilidad consisten en someter los medios de cultivo preparados (se recomienda al menos el 2 - 5% del total del lote), a temperaturas ideales para el crecimiento de microorganismos que puedan ocasionar la contaminación (4). Se recomienda incubar a una temperatura de 30° – 35°C por al menos 24 horas. No obstante, es recomendable también colocar a temperatura entre 20° – 25 °C por un período de 5 días, para asegurar que tampoco hay riesgo de contaminación por hongos. En caso de verificar la contaminación del lote, se debe de retirar el mismo de uso, y realizar su descarte adecuado.

c. Pruebas de recuperación y promoción del crecimiento

Se deben utilizar cepas de referencia para generar un stock de referencia, del cual se generan los cultivos de trabajo. Nunca se deben utilizar cepas subcultivadas de muestras para preparar stocks de referencia por la variabilidad de las mismas. En ciertos casos es recomendable también utilizar cepas autóctonas, puesto que permite realizar una simulación de las cepas que se buscan aislar.

Se recomienda que al recibir una cepa de una colección como la ATCC o de otro organismo autorizado, se deben activar y probar su pureza e identidad, previo a su preservación. Si se considera puro, se pueden preparar ampollas secas las cuales se conservan a temperaturas de congelación (-70 a -20°C), o se pueden preparar caldos o medios cubiertos con glicerol para asegurar la viabilidad por más tiempo y minimizar la variabilidad. Estas ampollas son las que se consideran de referencia o “Master”. Se deben preparar de 3 – 12 ampollas las cuales conforman el stock de referencia. El “Master” se puede almacenar a -20°C por 0,5 a 2 años⁽⁴⁾.

El Stock de referencia es utilizado para generar los cultivos de trabajo, que se usan diariamente. Las cepas a utilizar para estas pruebas no deben exceder las 5 generaciones desde la apertura de la ampolla liofilizada, es decir, no deben exceder los 5 pasajes en medios de cultivo (aplicable también al caso de utilizar cepas autóctonas del ambiente). Los cultivos de trabajo se pueden almacenar un máximo de 4

semanas a 4°C. A partir de los cultivos de trabajo se preparan las soluciones estandarizadas de células para ser utilizadas en el control de calidad ⁽⁴⁾.

Para preparar las soluciones estandarizadas, se pueden seguir varias estrategias. Las diluciones de bacterias se pueden realizar en soluciones buffer de cloruro de peptona o buffer de fosfatos, en el caso de los hongos se recomienda más utilizar el bufer de polisorbato 80. La inoculación no debe ser mayor a 100 Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Las diluciones deben ser utilizadas dentro de las 2 horas siguientes, o se pueden almacenar de 2-8 °C por 24 horas. Para calcular las 100 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se puede realizar a través de un conteo manual, conteo automatizado a través de un citómetro de flujo, diluciones y plaqueo, o lo más utilizado, que es realizar una curva para determinar la cantidad aproximada de células de acuerdo a turbidez o nefelometría ⁽⁴⁾.

Existen algunos parámetros que a evaluar y registrar a los medios de cultivo cuando se comparan contra un medio de cultivo de referencia o previamente aprobado ⁽⁴⁾:

Productividad

Se utiliza, cuando se quiere demostrar el crecimiento de un microorganismo en un medio de cultivo. La productividad debe alcanzar un crecimiento mínimo de 70% de los microorganismos en medios no selectivos. En el caso de medios de cultivo selectivos, debe alcanzar un mínimo de un 50%.

La razón de productividad se obtiene con la siguiente fórmula:

$$Pr = \frac{N_s}{N_o}$$

Donde N_s es el conteo total de colonias obtenido en el medio de cultivo a probar, y N₀, se refiere al conteo total obtenido en el medio de cultivo de referencia o considerado como modelo, el cual debe ser mayor o igual a 100 UFC.

En lo que respecta a evaluaciones cualitativas, la revisión visual se realiza y se le asigna una interpretación.

• Selectividad

Se utiliza cuando lo que se quiere es demostrar que un medio de cultivo inhibe el crecimiento de algún microorganismo o para seleccionar algún microorganismo.

Métodos para medios sólidos (cuantitativo)

Se debe lograr alcanzar un crecimiento mínimo de 50% del microorganismo blanco en el medio selectivo. El microorganismo blanco, sería el que se esperaría recuperar en el medio selectivo. Los microorganismos no blancos, se deben usar en concentraciones por debajo de 104 UFC por ml y los blancos a concentraciones de 106 a 108 UFC por ml.

Se calcula el Factor de Selectividad de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$S_F = D_o - D_s$$

Todos los valores son expresados en Log10. D_o es la mayor dilución que mostró crecimiento de al menos 10 colonias en un medio no selectivo de referencia. D_s es la mayor dilución que mostró un crecimiento comparable en el medio selectivo. El valor de S_F en la mayoría de los medios selectivos debe ser de al menos 2.

Método para medios sólidos o líquidos (semicuantitativo).

Es un método donde se realiza una inoculación de las placas con un asa en la superficie del medio de cultivo, a modo de estrías paralelas. Se pueden probar varios microorganismos a la vez, siempre y cuando no se crucen y no haya un efecto inhibitorio entre ellas.

Para esta prueba, se realiza una interpretación trinomial: “0” no hay crecimiento, “1” crecimiento débil y “2” crecimiento óptimo. Con el microorganismo blanco, se debe alcanzar un “2” y tener una apariencia típica, en lo que respecta a tamaño y a morfología. El

crecimiento de los microorganismos no blanco, debe ser parcialmente o completamente inhibido, por lo que alcanzarían un valor de “1” o de “0”.

Para el caso de medios líquidos, se sigue el mismo procedimiento, pero la escala se modifica: “0” no hay turbidez, “1” turbidez ligera y “2” turbidez abundante. El microorganismo blanco debe alcanzar un valor de 2. Se pueden revisar además características de producción de gas, cambios de color y otras.

Especificidad o pruebas para microorganismos específicos (control positivo / negativo)

Ciertos medios de cultivo diferenciales, tienen propiedades que permiten diferenciar los microorganismos gracias a propiedades bioquímicas resultado de su metabolismo.

Cada laboratorio debe establecer sus criterios de aceptación y de rechazo de los lotes de medios de cultivo. No obstante, se presenta un resumen de los recomendados por la literatura ⁽⁴⁾:

d. Método ecométrico

Este método es el más ampliamente utilizado para medios de cultivo sólidos dada su facilidad de utilización y de interpretación. Se basa en la dilución por rayado hasta la extinción. En si permite proporcionar información e índices absolutos y relativos de crecimiento microbiano para evaluar desde el crecimiento en un medio de cultivo nutritivo hasta el crecimiento en medios selectivos, diferenciales o con inhibidores.

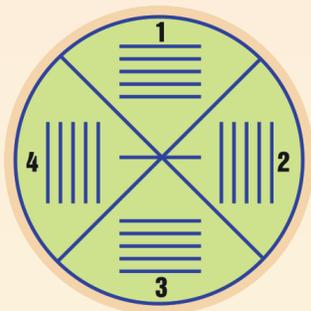
Para este método se recomienda un muestreo del 5 – 10% del total del lote producido.

Interpretación de resultados de recuperación para aceptación de lotes.

Tipo de método	Cuantitativo	Cualitativo
Productividad	>70% (organismo blanco) en medio no selectivo >50% (organismo blanco) en medio selectivo < 25% microorganismos no blanco	*
Selectividad	>2 Log	*
Especificidad	Se rechaza si no se produce la morfología o tamaño característico, o no hay respuesta bioquímica esperada. Se rechaza si falla en suprimir la flora de fondo	Se rechaza si no se produce la morfología o tamaño característico, o no hay respuesta bioquímica esperada. Se rechaza si falla en suprimir la flora de fondo

Se prepara una solución de trabajo del microorganismo en cuestión a una concentración de entre el 4,4 y 5,5 según la escala McFarland. Es muy importante, que a la hora de preparar esta solución, se utilicen cultivos recientes de microorganismos, para permitir que se encuentren en una fase de crecimiento exponencial. Se recomienda siempre usar cultivos de no más de 24 horas.

Con un asa se coloca 1 µL de la solución según se indica en el dibujo siguiente:



Fuente: Leal, Marco.⁽³⁾

Se sigue el orden de rayado, primero el cuadrante A, después el B, y así sucesivamente. El asa se debe levantar entre cada rayado. Al final se realiza un rayado final en el centro de todos los cuadrantes.

Los platos o placas de Petri, son incubados durante 24 horas y se verifica la presencia de colonias en cada estria. La incubación para bacterias es de 24-48 h a 36 ± 1° C, y para las cepas de hongos 36-72 h a 25 ± 2° C.

Se realiza una interpretación numérica de acuerdo a un índice de crecimiento absoluto (ICA), según la tabla siguiente:

Quadrante A	Quadrante B	Quadrante C	Quadrante D	Estria Central
A1 = 0,2	B1 = 1,2	C1 = 2,2	D1 = 3,2	0,5
A2 = 0,4	B2 = 1,4	C2 = 2,4	D2 = 3,4	
A3 = 0,6	B3 = 1,6	C3 = 2,6	D3 = 3,6	
A4 = 0,8	B4 = 1,8	C4 = 2,8	D4 = 3,8	
A5 = 1,0	B5 = 2,0	C5 = 3,0	D5 = 4,0	

Si existe crecimiento en todas las estrias, se asigna un valor de 5,0. Si sólo hay crecimiento en la primera estria de todas se asigna un valor de 0,2. Así sucesivamente se va obteniendo un índice de acuerdo al crecimiento.

Los criterios deben ser propios de cada laboratorio, no obstante, algunos laboratorios utilizan los criterios unificados siguientes: Si es un medio no selectivo, se utiliza un ICA mínimo de 3,5. Para medios selectivos y/o diferenciales con la cepa blanco se utiliza un ICA mínimo

a 3,0. En caso de que sea medios con inhibidores, donde se espere un crecimiento negativo, lo máximo que se acepta es un ICA de 2,0.

Cada laboratorio debe establecer cuales metodologías son las más idóneas para su trabajo, tanto respecto a los servicios que brinda como a la factibilidad económica de realizar estas pruebas. En su mayoría, estas metodologías son las que la Organización Internacional de Estandarización propone como mecanismos de estandarización y reproducibilidad de los procesos a nivel mundial, por lo que es necesario que en el quehacer microbiológico se contemplen estos lineamientos como parte de la actualización profesional. De este modo, poder preveer los cambios que se podrían aproximar para la microbiología costarricense y la calidad de los resultados que se están emitiendo en nuestros laboratorios.

Referencias

- 1.- Bridson, Y. 2006. The Oxoid Manual. 9th edition. Oxoid Limited: Hampshire, England.
- 2.- Corry, J. et al. Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology. 2012. 3rd edition. RCS Publishing: Cambridge, UK.
- 3.- Leal, Marco. Eficacia antibacteriana de extractos de plantas: aplicación clínica en mastitis bovina. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 2014. 17(1), 179-187.
- 4.- ISO/TS 11133-1:2014: Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Guidelines on preparation and production of culture media -- General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory. (Microbiología de alimentos y de alimentos para animales -- Lineamientos para la preparación y producción de medios de cultivo). ISO: USA.
- 5.- Simbco, M.J. et al. Difco & BBL Manual of Microbiological Culture Media. Second Edition. Becton, Dickinson and Company: Maryland, USA.
- 6.- Standard Methods of water and wastewater analysis. APHA, 2006. USA
- 7.- Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (NCCLS). Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Media, M22-A3. 2004. Third Edition. 24 (19).
- 8.- United States Pharmacopeial Convention, Inc. 2008. The United States Pharmacopeia. On line. Maryland, USA

Leucemias agudas: análisis epidemiológico de los pacientes referidos al servicio de Hematología del Hospital Maximiliano Peralta Jiménez de Cartago, Caja Costarricense de Seguro Social

Acute leukemias: epidemiological analysis of referred patients to the Hematology Service, Hospital Maximiliano Peralta Jiménez, Cartago, Caja Costarricense de Seguro Social

Emmanuel Molina-Solano¹, Lariza Acuña-De La Peña^{1,II}, Xinia Gómez-Montero^{1,II}

Resumen:

El objetivo de este estudio fue analizar la descripción epidemiológica de las leucemias agudas diagnosticadas en el período comprendido entre enero de 2010 y diciembre de 2016 en el Hospital Maximiliano Peralta Jiménez de Cartago. Se estudiaron 94 casos, 52 clasificados como leucemia mieloide aguda y 42 casos como leucemia linfocítica aguda; todos contaron con diagnóstico morfológico y 90 de ellos fueron confirmados por medio de citometría de flujo. Los casos fueron agrupados según género, edad al momento del diagnóstico, edad al momento del fallecimiento y residencia. Los pacientes con leucemia mieloide aguda fueron clasificados por subtipo de acuerdo a los criterios del Grupo Cooperativo Franco-Americano-Británico; la clasificación inmunofenotípica según estadio fue requerida para agrupar los pacientes con leucemia linfocítica aguda. En la población analizada predomina el subtipo M0 entre las LMA y la LLA B común entre las de estirpe linfocítica. En esta población las mujeres conforman la mayor cantidad de pacientes diagnosticadas en las leucemias de línea mieloide, mientras que los varones conforman la mayoría de los pacientes con leucemia linfocítica. De acuerdo a la edad, los pacientes con leucemia mielocítica se encuentran por encima de los 50 años. El cantón Central de Cartago y la región de los Santos aportan el mayor número de casos registrados en este hospital. En la población analizada se presentan más casos de leucemia mieloide aguda en mujeres que en hombres lo cual difiere de lo reportado en la literatura a nivel global.

Palabras clave: leucemia, epidemiología

Abstract:

The aim of this study was to analyze the epidemiologic behavior of the cases of acute leukemia diagnosed in Max Peralta Hospital in Cartago, Costa Rica. The study was conducted in 94 cases, 52 of them were classified as acute myeloid leukemia and 42 cases were acute lymphoid leukemia. All of the cases were diagnosed by morphology, 90 of them were confirmed by flow cytometry. The cases were classified by gender, age at the time of diagnosis, age at the time of death and home location. Patients of AML were classified by the FAB group, and immunophenotypic classification was needed to establish the maturation stage in patients with ALL. In the studied population the M0 subtype was the most common within the AML, and the ALL B-common was predominant in the group of ALL. Within the AML most of the cases were women, while men represented the majority of the cases of ALL. Patients upper 50 years predominated in acute lymphoid leukemia. The central district of Cartago and the Santos region provided the higher number of cases in medical center. In the sample studied there were more cases of acute myeloid leukemia in women than in men, in contrast to what was reported in the global literature.

Key words: leukemia, epidemiologic

Recibido el 19/10/2016, aceptado para su publicación el 16/05/2017

I. Microbiólogo Químico Clínico, Laboratorio Clínico Hospital Maximiliano Peralta, CCSS

II. Microbiólogo Químico Clínico especialista en Hematología. Laboratorio Clínico Hospital Maximiliano Peralta, CCSS

Correspondencia: emanuel.m92@gmail.com

Introducción

Las leucemias agudas se caracterizan por la proliferación clonal de células hematopoyéticas que presentan una alteración en la diferenciación lineal y esto se traduce en un exceso de células inmaduras a nivel de médula ósea y su posterior infiltración a sangre periférica ⁽¹⁾.

Esta alteración puede asociarse a variaciones genéticas que llevan a la inactivación de genes supresores o la activación de oncogenes. Por ejemplo, en leucemias mieloides agudas se han identificado mutaciones en los genes AML, FLT3 Ras y PTPN11. Del mismo modo, se han identificado fusiones asociadas a translocaciones como AML/ETO, PML/RAR α y MLL. ⁽²⁾.

Esta patología se define por la cantidad de blastos que se encuentren en médula ósea. Sin embargo, los hallazgos que se observen en el frotis de sangre periférica son fundamentales y sirven de base para solicitar la evaluación de un frotis de médula ósea.

Las leucemias agudas se clasifican según la línea germinal que está asociada a la proliferación clonal, ya sea mieloides o linfoides ⁽¹⁾.

Existen dos sistemas aceptados internacionalmente para la clasificación de las leucemias agudas. El sistema propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) basa sus criterios en estudios citogenéticos, moleculares e inmunofenotipo.

Esta última técnica se incluye en nuestro trabajo y la ventaja que presenta es la alta sensibilidad y especificidad que,

por medio de la utilización de anticuerpos monoclonales, permite identificar las células patológicas ^(1,3,2,4,5).

El otro sistema ampliamente utilizado es la clasificación generada por el grupo Franco Anglo Británico (FAB) que se basa en la morfología celular (Cuadro 1) ^(3,4,6).

En lo que respecta al pronóstico clínico de la leucemia mieloides aguda (LMA) este se determina por el subtipo diagnosticado, ya que algunas de estas son asociadas a una corta expectativa de vida posterior al diagnóstico. No obstante, deben valorarse un conjunto de factores adicionales que pueden influir en la supervivencia del paciente como: la edad, el conteo de leucocitos al momento diagnóstico, género, porcentaje de blastos circulantes, la presencia de anomalías citogenéticas y mutaciones moleculares. Adicionalmente la respuesta a la terapia de inducción, la presencia de enfermedad extramedular o si la leucemia es primaria o secundaria son factores que influyen significativamente en la supervivencia de los pacientes ^(1,2).

De acuerdo a la literatura, las LMA se asocian principalmente a individuos masculinos en edades mayores a los 50 años y la mayor incidencia se presenta entre los 55-85 años ^(1,3,7). Algunos autores también asocian la exposición a derivados del benceno, radiación, humo de tabaco y quimioterapia como predisponente para el desarrollo de estas ^(1,8,2,4).

Según el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos y el programa de Vigilancia, Epidemiología, y Resultados Finales (SEER por sus siglas en inglés), el número de casos en ese país para LMA en hombres y mujeres en el periodo 2009-2013 fue de 4.1 por cada 100 000 habitantes y la mortalidad asociada para esta misma población fue de 2.1 por cada 100 000 habitantes ⁽⁷⁾.

Las leucemias linfoides agudas (LLA) se asocian a la mutación de la línea celular precursora de la estirpe linfoides ⁽⁵⁾. Al igual que en las LMA, existe la clasificación dada por la OMS y la clasificación FAB. Además de estas dos clasificaciones se utiliza la clasificación inmunofenotípica, la cual utiliza marcadores de membrana expresados en las células linfoides, los cuales son determinados mediante citometría de flujo (Cuadro 2) ^(3,9).

El pronóstico clínico de las LLA se relaciona con las mutaciones que posea la estirpe afectada, además de factores como la edad del paciente, el conteo de leucocitos al diagnóstico, el género, la cantidad de blastos circulantes, la respuesta a la terapia de inducción, la presencia de enfermedad extramedular o si la leucemia es primaria o secundaria, además de factores ambientales al igual que en LMA. ^(1,3,4).

Cuadro 1. Clasificación FAB de las leucemias agudas mieloides.

Variedad morfológica	Características
LMA0	Mínimamente diferenciada
LMA1	Mieloblástica sin maduración
LMA2	Mieloblástica con maduración
LMA3	Promielocítica
LMA4	Mielocítica
LMA5a	Leucemia aguda monocítica en la que predominan monoblastos.
LMA5b	Leucemia aguda monocítica en la que junto a los monoblastos se observa una elevada proporción de promonocitos y monocitos.
LMA6	Eritroide
LMA7	Megacarioblástica

Modificado de Revista de Laboratorio Clínico ⁽⁶⁾.

Cuadro 2. Clasificación FAB de las leucemias agudas linfoides.

Clasificación	Marcadores de membrana
LLA B: Pro B o nula	CD19+, CyCD79a+ y/o CD22+; CD10-, CyIlgμ-, sIlgM-
LLA B: Común	CD10+, CyIlgμ-, sIlgM-
LLA B: Pre B	CyIlgμ+, sIlgM-
LLA B: B madura	sIlgM+
LLA T: Pro T	CD7+, CyCD3+
LLA T: Pre T	CD7+, CyCD3+; CD2+ y/o CD5+ y/o CD8+
LLA T: T cortical	CD7+, CyCD3+, CD1a+
LLA T: T medular	CD3+ y CD1a-; CD7+

Modificado de: Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y el seguimiento de la leucemia linfoblástica aguda del adulto ⁽⁹⁾.

Las LLA se han asociado a un comportamiento bimodal en cuanto a sus picos de incidencia ya que se presenta en niños de edades entre los 4 y los 14 años y en adultos mayores a los 50 años ^(7,1,3,4,5).

La incidencia en LLA en hombres y mujeres en los Estados Unidos de Norteamérica en el periodo 2009-2013 es de 1.7 por cada 100 000 habitantes y la mortalidad asociada para esta misma población fue de 0.4 por cada 100 000 habitantes ⁽⁷⁾.

En Costa Rica existen pocos datos acerca de incidencia de las leucemias agudas, su clasificación según diagnóstico y datos demográficos del paciente. El último informe de incidencia publicado en mayo de 2016 por el Registro Nacional de Tumores del Ministerio de Salud costarricense no incluye ésta patología ⁽¹⁰⁾.

En cuanto a la mortalidad, el Ministerio de Salud reporta solo la categoría leucemias; en este informe se reporta para el año 2015 una tasa de 3.72 por cada 100 000 mujeres a nivel nacional y de 4.25 para la provincia de Cartago, siendo ésta la segunda más alta a nivel provincial (Cuadro 3). En

Cuadro 3. Tasa de mortalidad en el año 2015 asociada a las leucemias en Costa Rica clasificada por provincia.

Región	Tasa de mortalidad por cada 100 000 habitantes	
	Mujeres	Hombres
Total	3.72	4.76
San José	3.49	5.82
Alajuela	4.45	4.70
Cartago	4.25	4.19
Heredia	3.68	5.28
Guanacaste	3.25	3.22
Puntarenas	3.07	2.91
Limón	3.35	4.46

el caso de los varones se reporta una mortalidad de 4.76 por cada 100 000 varones y de 4.19 para la provincia de Cartago siendo esta la quinta más alta a nivel provincial ⁽¹⁰⁾.

En este estudio se realiza una compilación de datos demográficos de pacientes con leucemia aguda los cuales han sido diagnosticados en el (HMPJ) de la provincia de Cartago.

Materiales y métodos

Se seleccionan todos los casos diagnosticados con leucemia aguda comprendidos entre enero de 2010 y diciembre de 2016 de la base de datos

del Laboratorio de Hematología del HMPJ. Se incluyen pacientes diagnosticados tanto con LMA como LLA. Todos los casos, 94 en total, cuentan con diagnóstico morfológico; solo fue posible confirmar por medio de la citometría de flujo 90 de estos. El análisis por citometría de flujo se realizó en el Laboratorio de Estudios Especializados e Investigación del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera.

Posteriormente se verifica en la base de datos la edad del caso al momento del diagnóstico y la edad al momento del estudio, el lugar de residencia y su fallecimiento.

Resultados

En total se obtuvo 94 casos de pacientes diagnosticados con leucemia aguda, de los cuales 52 corresponden a LMA y 42 a LLA. De los 52 casos de LMA la mayoría, 14 casos, corresponde a M0 (Cuadro 4) según la clasificación FAB.

Se observa que el 72% de los casos reportados de LLA corresponden a LLA-B común, solo un 2% corresponde

Cuadro 4. Distribución de los casos LMA reportados de acuerdo al sistema de clasificación FAB.

Clasificación FAB	Casos	Porcentaje
M0	14	27
M1	6	12
M2	7	13
M3	9	17
M4	5	10
M5a	4	8
M5b	4	8
M6	0	0
M7	1	2
MIXTA	2	4

a LLA B-nula, un 2% de LLA de estirpe T precursoras tempranas y un 2% de LLA de estirpe T: Pro T (Cuadro 5).

Cuadro 5. Clasificación inmunofenotípica de los casos LLA reportados.

Clasificación Inmunofenotípica	Casos	Porcentaje
LLA-B común	30	72
LLA sin citometría	4	10
LLA-Pre B tardía	3	7
LLA-B madura	2	5
LLA-B Nula	1	2
LLA-T precursoras tempranas	1	2
LLA-T Pro T	1	2

Cuadro 6. Casos reportados de leucemias agudas por tipo, género y estado del paciente.

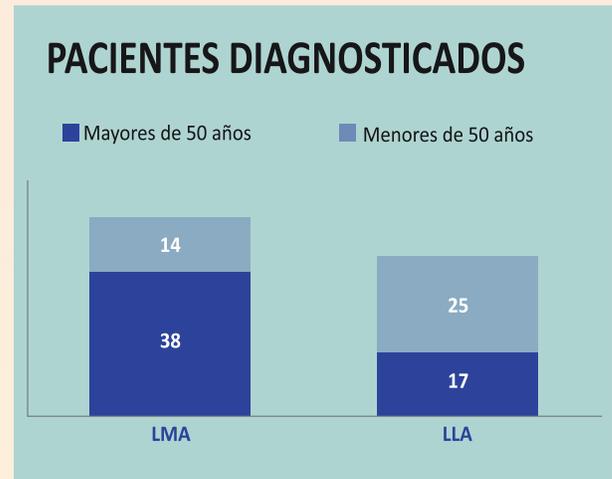
Clasificación	LMA		LLA		Total	
	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres
Fallecidos	27	19	9	15	36	34
Vivos	3	3	9	9	12	12
Total Casos	26	17	17	19	43	36

Del total de casos de leucemias agudas mieloides 30 de ellos corresponden a mujeres, de las cuales 27 se encontraban fallecidas al momento del estudio y de los 22 casos diagnosticados en hombres, 19 eran fallecidos. En los casos diagnosticados con LLA, 18 corresponden a mujeres y 24 a varones, de estos fallecieron 9 y 15 pacientes respectivamente (Cuadro 6).

De los pacientes fallecidos se obtuvo además la fecha de defunción, por lo que se pudo calcular el promedio de días que pasan desde el momento del diagnóstico hasta el día de la muerte. Para LMA se obtuvo un valor promedio de 65 días, con una mediana de 22 días; para LLA el promedio obtenido fue de 229 días y con una mediana de 64 días.

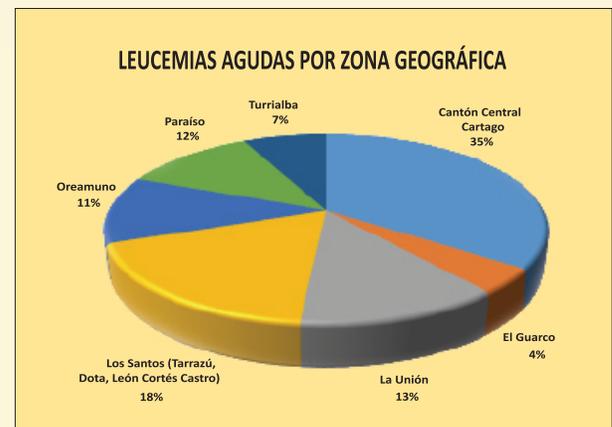
La edad de los individuos al momento del diagnóstico con LMA fue en promedio de 60 años y para el caso de los pacientes con LLA fue de 41 años. El 73% de los pacientes diagnosticados con LMA presentaron una edad mayor a los 50 años, para los pacientes con LLA el 40% de ellos se clasifican dentro de éste grupo etario (Figura 1).

Figura 1. Casos de pacientes diagnosticados con LA clasificados por edad y tipo de leucemia.



De acuerdo a la región de la cual provienen los pacientes diagnosticados y tratados con LA en este centro médico, el Cantón Central de Cartago y la región de los Santos (cantones de Santa María de Dota, San Marcos de Tarrazú y San Pablo de León Cortés que geográficamente pertenecen a la provincia de San José pero corresponden al área de atracción del HMPJ) son las zonas que presentan mayor número de casos (Figura 2).

Figura 2. Porcentaje de casos diagnosticados según zona geográfica de procedencia.



Discusión

Los casos de leucemias agudas son en su mayoría pertenecientes a la línea celular mielocítica, esta distribución es similar a casos registrados en otros países ^(11,12,13,4,3,7).

En estudios realizados por diferentes autores se manifiesta que la LMA con mayor porcentaje de incidencia es la leucemia mieloide indiferenciada (M0) ^(14,13), de esta misma forma se presentó en los casos diagnosticados en la provincia de Cartago donde la LMA (M0) representa una tercera parte de los casos correspondientes a la estirpe mieloide.

La distribución del resto de las LMA diagnosticados en el HMPJ coincide con lo reportado para la población latinoamericana, en la cual se presentan casos de LMA (M1) a la LMA (M4) representando alrededor del 10% del total reportado ^(11,13,15). En la población de origen europeo, esta distribución difiere en la cantidad de diagnósticos para leucemia promielocítica ya que es poco frecuente en individuos procedentes de esta región ⁽³⁾. Los subtipos de LMA M6 y M7 son poco comunes en la población general.

Los 42 casos registrados como LLA corresponden en su mayoría a LLA B con un 72% de los casos, al igual que en la población norteamericana ^(14,3).

Los casos de LLA-B madura, y LLA-Pre B tardía representan un 12% entre ambos; al 10% de los pacientes no se realizó la citometría de flujo debido a que fallecieron antes de obtener la muestra para el diagnóstico confirmatorio.

En diversos estudios el género de los pacientes se ha considerado un factor importante de riesgo, siendo de peor pronóstico en el varón ^(11,13). Sin embargo, en nuestro estudio 30 de los 52 individuos diagnosticados con LMA son mujeres y de ellas fallecieron 27. Esta situación coincide con el reporte del Registro Nacional de Tumores del Ministerio de Salud, que indica que para la provincia de Cartago existe una tasa de mortalidad mayor en mujeres que en varones ⁽¹⁰⁾, un comportamiento epidemiológico que difiere de lo reportado en la literatura médica.

A nivel mundial se reportan más casos de LMA en hombres que en mujeres ^(14,12,13,7). En los casos reportados en el HMPJ ésta condición no se cumple, ya que los hombres diagnosticados con éste tipo de leucemia solo alcanzan el 42% de los mismos. Esta diferencia podría deberse a que los pacientes masculinos no visitan con tanta frecuencia los centros de salud y exista un subregistro en su diagnóstico. Se debería realizar otros estudios para llegar a conclusiones puntuales que expliquen este fenómeno en la provincia.

La distribución por género en las LLA es similar para hombres y mujeres, lo mismo ocurre con el porcentaje de muertes, coincidiendo esto con la literatura consultada ^(14,7).

Diversos estudios reportan que el porcentaje de fallecimientos es mayor en aquellos pacientes diagnosticados con LMA comparados con los pacientes con LLA ⁽¹³⁾, lo cual se cumple en los resultados obtenidos en este estudio (89 % fallecidos con LMA y 57 % fallecidos con LLA).

Al evaluar los días posteriores al diagnóstico se comprueba que la LMA es de un desarrollo más agresivo y agudo ^(13,3) con una mediana de 22 días para terminar en fallecimiento. En las LLA, si llegan a terminar en fallecimiento, la mediana es de 64 días.

Diversos estudios concluyen que las LMA se presentan principalmente en poblaciones mayores de 50 años ^(1,3,7), dato que no difiere con los resultados obtenidos en el HMPJ, donde la edad promedio de los casos con esta patología es de 60. Si bien no existen estudios concluyentes con respecto a las causas que pueden detonar la aparición de esta enfermedad en estas etapas de la vida, se sugiere que pueden estar relacionadas a deleciones cromosómicas o aberraciones replicativas en el ciclo celular producto de la edad ^(11,12,7).

Entre las causas posibles que condicionan la mortalidad en la población diagnosticada con LMA, se pueden mencionar el mal pronóstico asociado a la edad y las comorbilidades presentes en estos pacientes ^(13,4,1).

No se puede decir lo mismo en los casos de LLA en los cuales se reporta a nivel mundial una distribución bimodal en niños y adultos mayores de 50 años. Este dato no se puede verificar en su totalidad debido a que pacientes menores a 13 años con indicios de esta patología son referidos al Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera.

En este estudio, los pacientes que corresponden a los casos de LLA tienen una edad promedio de 41 años. Otros estudios reportan que la mayoría de los casos de LLA presentan un buen pronóstico en niños, no así en poblaciones de los 15 a los 39 años, datos que coinciden con el 57% de fallecidos con LLA en nuestro hospital. ^(16,5,4,3).

Al analizar la región geográfica de la cual provienen los individuos diagnosticados con leucemias agudas en el HMPJ, se observa que la mayoría de ellos provienen del cantón Central de Cartago (35%) y la zona de los Santos (18%), como dijimos, de la provincia de San José. Estas dos regiones representan más de 53% de los casos.

Es de suma importancia destacar el total de la población por cada región proyectada por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC). De acuerdo a este informe, para el año 2016 el cantón central de Cartago tiene un total de 159 142 individuos y la sumatoria de la población de los cantones de la zona de los Santos alcanza apenas los 38 862 habitantes (18). Al comparar el número de casos de leucemia con respecto a la población total se obtiene que, en el periodo comprendido entre los años 2010 a 2016, el cantón central de Cartago presenta una tasa de 20 casos por cada 100 000 habitantes y para la zona de los Santos la tasa es de 43 casos por cada 100 000 habitantes.

Queda como inquietud someter a evaluación las variables que podrían asociarse a una mayor cantidad de casos en estas poblaciones. Las condiciones ambientales, la exposición a diferentes agroquímicos en zonas de cosecha y características genéticas de la población que habita en el lugar, podrían tener relación con el número de casos presentados ^(17,12).

Referencias

1. Raj K. Acute leukaemia. *Medicine*. 2013; 41(5): p. 269-274.
2. Rubnitz J, Gibson B, Smith F. Acute Myeloid Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2010; 24: p. 35-63.
3. Rose-Inman H, Kuehl D. Acute Leukemia. *Emergency Medicine Clinics of North America*. 2014; 32(3): p. 579-596.
4. Cornell R, Palmer J. Adult acute leukemia. *Dis Mon*. 2012; 58(4): p. 219-238.
5. Ustwania O, Guptab N, Bakhribaha H, Griffithsa E, Wanga E, Wetzler M. Clinical updates in adult acute lymphoblastic leukemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2016; 99: p. 189-199.
6. Anna M. Clasificación de las leucemias agudas mieloides. *Revista del Laboratorio Clínico*. 2010; 3(3): p. 139-147.
7. SEER. National Institutes of Health. [Online]; 2016. Disponible en <http://seer.cancer.gov/>.
8. Ferrara F, Schiffer C. Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet*. 2013; 381: p. 484-495.
9. Ciudad J, Orfao A. Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y el seguimiento de la leucemia linfoblástica aguda del adulto. *Medicina Clínica Monografías*. 2007; 129: p. 3-14.
10. INEC - Ministerio de Salud. Ministerio de Salud, Costa Rica. [Online]; 2016. Disponible en www.ministeriodesalud.go.cr.
11. Douer D. The epidemiology of acute promyelocytic. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2003; 16(3): p. 357-367.
12. Finna L, Sproatb L, Heckmanc M, Jiangd L, Diehlc N, Ketterlinge R, et al. Epidemiology of adult acute myeloid leukemia: Impact of exposures on clinical phenotypes and outcomes after therapy. *Cancer Epidemiology*. 2015; 39: p. 1084-1092.
13. Hahn A, Giria S, Yaghmoura G, Martin M. Early mortality in acute myeloid leukemia. *Leukemia Research*. 2015; 39: p. 505-509.
14. Winters N, Goldberg M, Hystad P, Villeneuve P, Johnson K, Group CCRE. Exposure to ambient air pollution in Canada and the risk of adult leukemia. *Science of the Total Environment*. 2015; 526: p. 153-176.
15. Bekadja M, Hamladji R, Belhani M, Ardjoun F, Abad M, Touhami H, et al. A population-based study of the epidemiology and clinical features of adults with acute myeloid leukemia in Algeria: report on behalf of the Algerian Acute Leukemia Study Group. *Hematol Oncol Stem Cel Ther*. 2011; 4(4): p. 161-166.
16. Andrew F, Jamy O, Martin M. Influence of Insurance and Marital Status on Outcomes of Adolescents and Young Adults With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*. 2015; 15(6): p. 364-367.
17. Gudzenko N, Hatch M, Bazyka D, Dyagil I, Reiss R, Brenner A, et al. Non-radiation risk factors for leukemia: A case-control study among chornobyl clean up workers in Ukraine. *Environmental Research*. 2015; p. 72-76.
18. INEC. INEC Costa Rica. [Online]; 2011 Disponible en: <http://www.inec.go.cr> 

Hemoglobina glicada falsamente elevada en paciente diabético con hemoglobina Raleigh

Glycated hemoglobin falsely elevated in diabetic patients with Raleigh hemoglobin

Lorena Isabel Valverde-Bolaños¹ y Evelyn González-Villalobos¹

Resumen:

Paciente de 72 años con historial de diabetes, hipertensión arterial, asma crónica y ex tabaquista, ingresa al servicio de Emergencias por sospecha de infarto agudo del miocardio. Como parte de los exámenes realizados se obtiene un valor de hemoglobina glicada (HbA_{1c}) de 54.8% mediante cromatografía líquida de alta eficacia (High performance chromatography, HPLC por sus siglas en inglés), con el equipo D-10 de BioRad. Por medio de un estudio genético para el gen de la beta hemoglobina, a una muestra sanguínea del paciente, se detectó la presencia de la mutación c.5T>C (p.Val2Ala) en estado heterocigoto, que se asocia con la presencia de hemoglobina Raleigh. Los tiempos de retención de la HbA_{1c} y de la hemoglobina Raleigh son virtualmente idénticos por lo que los picos de estas dos hemoglobinas caen en la misma ventana en el cromatograma. De esta forma, la presencia de hemoglobina Raleigh produce un valor falsamente elevado de HbA_{1c} cuando se analiza por HPLC. Para los pacientes con hemoglobina Raleigh, el ensayo de espectrometría de masas puede ser el mejor método para determinar la HbA_{1c}, porque mide la hemoglobina A y HbA_{1c} específicamente.

Palabras clave: Hemoglobina glicada, hemoglobina Raleigh, cromatografía líquida de alta eficacia, variantes de hemoglobina.

Abstract:

A 72 years old male patient was admitted in ER with suspicion of acute myocardial infarction. As a part of the tests a glycated hemoglobin result of 54.8% was obtained using high performance liquid chromatography (HPLC) by BioRad D-10. A genetic study of hemoglobin beta gen of the patient detected a c.5T>C (p.Val2Ala) heterozygous mutation which associates with Raleigh hemoglobin. Retention times of HbA_{1c} and Raleigh hemoglobin are virtually identical, thus, their peaks falls in the same window of the chromatogram, and therefore the presence of Raleigh hemoglobin produces a falsely high value of HbA_{1c} when performed by HPLC. Mass spectrometry could be the best method to measure HbA_{1c} in a person with Raleigh hemoglobin because it quantifies A Hemoglobin and HbA_{1c} specifically.

Key words: Glycated hemoglobin, Raleigh hemoglobin, high performance liquid chromatography (HPLC), hemoglobin variants

Introducción

La hemoglobina glicada (HbA_{1c}) es producida por la adición no enzimática de una molécula de glucosa al residuo de valina N-terminal en la cadena β de la hemoglobina A.¹ La Asociación Americana de Diabetes recomienda la HbA_{1c} como un

indicador del control glicémico a largo plazo en pacientes con diabetes mellitus y para el tamizaje y diagnóstico de la diabetes mellitus; sugiriéndose como valor de corte un resultado de 6.5%.²

Los métodos de análisis de HbA_{1c} pueden ser divididos en dos categorías: métodos basados en la carga molecular, que incluyen la cromatografía líquida de alta eficacia (High performance chromatography, HPLC por sus siglas en inglés) y la electroforesis; y aquellos basados en la

Recibido el 17/04/2017, aceptado para su publicación el 21/07/2017
I. Laboratorio Clínico Hospital San Rafael, Alajuela, CCSS
Correspondencia: lorevalverde@yahoo.com

estructura, que incluyen inmunoensayos, cromatografía de afinidad y la espectrometría de masas.^{1,3}

En los ensayos de HPLC y de electroforesis, la HbA_{1c} puede ser separada de la Hemoglobina A, debido a que la glicación de la valina N-terminal disminuye la carga positiva. Por lo tanto, los métodos basados en la carga pueden ser afectados por modificaciones post traduccionales (por ejemplo carbamilación y acetilación)^{1,4} o por mutaciones de hemoglobina que alteren su carga^{1,2}.

Los inmunoensayos utilizan anticuerpos dirigidos contra aminoácidos N-terminales glicosados en la cadena β para cuantificar la HbA_{1c}, y el porcentaje de HbA_{1c} se calcula a partir de las concentraciones de HbA_{1c} y Hemoglobina.³ De esta forma, cualquier factor que evite la glicación o cualquier mutación en el epítipo de los aminoácidos N-terminales, que afecten el reconocimiento de anticuerpos producirán resultados erróneos. Adicionalmente, pacientes con hemoglobina F mayor al 10% tendrán un valor falsamente bajo de HbA_{1c} por inmunoensayo debido a que la cadena γ comparte solo 4 de los 10 primeros aminoácidos con la cadena β de HbA y tiene de poca a ninguna inmunoreactividad con la mayoría de anticuerpos usados en los ensayos de HbA_{1c}.³

En el ensayo cromatográfico de afinidad de boronato, el ácido borónico reacciona con los grupos cis diol creados por la glicación, y de esta forma permiten que las glicohemoglobinas tales como la HbA_{1c} sean separados

de la HbA.³ Por otra parte, las variantes de Hb con excesiva glicación, como la Hb Himeji, pueden interferir con este ensayo.⁶ El ensayo de espectrometría de masas, un método de referencia de la Federación Internacional de Química Clínica y Medicina Laboratorial (IFCC por sus siglas en inglés), mide específicamente la valina N-terminal glicosada de la cadena β de la HbA⁶, pero el costo elevado de un espectrómetro de masas hacen difícil su uso en la mayoría de los laboratorios clínicos.³

Presentación del caso

Paciente de 72 años con historial de diabetes, hipertensión arterial, asma crónica y ex tabaquista, ingresa al servicio de emergencias de un hospital regional de la CCSS por sospecha de infarto agudo del miocardio. Manifiesta que consume metformina 500 mg dos veces al día, glibenclamida 5 mg dos veces al día y enalapril 5 mg por día. Al momento del internamiento se le realizan los siguientes exámenes de laboratorio:

Se le administra 1.5 millones de estreptoquinasa y se establece el siguiente esquema de medicamentos: enalapril 5 mg al día, aspirina 100 mg al día, clopidogrel 75 mg al día, lovastatina 40 mg al día, famotidina 40 mg al día y atenolol 25 mg al día.

Al día siguiente de su internamiento el médico tratante solicita otra serie de análisis:

Tabla 1. Resultados de laboratorio obtenidos a partir de muestras sanguíneas del paciente al momento de su ingreso al servicio de emergencias.

Análisis	Resultado obtenido	Unidades de medición	Rango de referencia
Glicemia *	314	mg/dl	70 – 100
Nitrógeno Ureico*	25.4	mg/dl	7 – 18
Creatinina *	1.69	mg/dl	0.62 – 1.35
Cloruro *	98.7	mmol/L	98 – 111
Potasio*	3.50	mmol/L	3.5 – 5.5
Troponina I**	247	pg/ml	0 – 20
Hemoglobina***	13.6	g/dl	14.0 – 17.5
Hematocrito***	39	%	42.0 – 50.0
Recuento de leucocitos***	28500	Leucocitos por µL	4000 – 10000

*Analizado en AU 680 de Beckman Coulter. ** Analizado en Pathfast de Mitsubishi Chemical Europa. *** Analizado en XT-1800i de Sysmex.

Tabla 2. Resultados de laboratorio obtenidos a partir de muestras de orina y sangre del paciente al día siguiente de su internamiento.

Análisis	Resultado obtenido	Unidades de medición	Rango de referencia
Proteinuria en orina de 24 horas*	244	mg/24 horas	50 – 24
Colesterol Total*	178	mg/dl	Menos de 200
HDL Colesterol *	23	mg/dl	40 – 70
Triglicéridos*	208	mg/dl	Menos de 150
Hemoglobina glicosada**	54.8	%	4.0 – 5.0

*Analizado en AU 680 de Beckman Coulter. **Analizado en D-10 de BioRad.

Debido al carácter anormal de este valor de HbA_{1c} (Ver figura 1) se considera la posibilidad de la presencia de una variante de hemoglobina, por lo que se realiza una electroforesis capilar de hemoglobina, con resultado tipo (AA) Normal.

Por otra parte, se solicitó el estudio genético de una muestra del paciente, para el gen de la Beta hemoglobina,

Se realiza además determinación de:

Tabla 3. Resultados de laboratorio obtenidos a partir de muestras de sangre del paciente con muestras obtenidas después de la detección de hemoglobina Raleigh.

Análisis	Resultado obtenido	Unidades de medición	Rango de referencia
Hierro Sérico*	14	µg/dl	70 – 180
Capacidad Total de Fijación*	225	µg/dl	261 – 478
Saturación de Transferrina*	6	%	20 – 60
Acido Fólico**	18.6	ng/ml	Más de 5.9
Ferritina**	309.3	ng/ml	23.9 – 336.2
Vitamina B12**	445	pg/ml	50 – 1500

*Analizado en AU 680 de Beckman Coulter.

**Analizado en Unicel DxI 800 de Beckman Coulter.

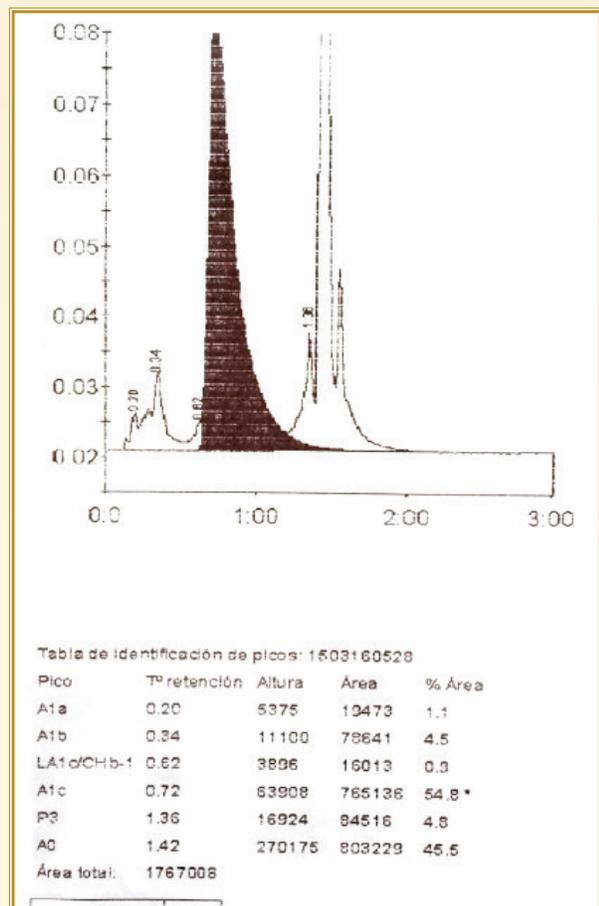
en el cual se realizó la extracción de ADN genómico a partir de sangre periférica y su posterior análisis de mutaciones del gen HBB mediante la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) y la secuenciación de los exones y de las regiones intrónicas flanqueantes. Se utilizó como secuencia de referencia: NM_000518.4, designado como el codón 1 el ATG de inicio de traducción y el nucleótido 1 de la adenina de este codón. Para la nomenclatura de mutaciones se siguió las recomendaciones de HGMD (Human Genome Variation Society).¹⁷

Este estudio detectó la presencia de la mutación c.5T>C (p.Val2Ala) en estado heterocigoto, la cual ocasiona un cambio en el aminoácido 2 de la proteína Beta hemoglobina, modificando una valina por una alanina, que se asocia con la presencia de hemoglobina Raleigh. Una segunda mutación no fue detectada mediante este estudio.

Una vez confirmada la mutación se toman nuevas muestras al paciente y se realiza la determinación de HbA_{1c} mediante 4 metodologías diferentes: HPLC (D-10 de BioRad), inmunoensayo competitivo de inhibición turbidimétrico (Cobas c501 de Roche), inmunoensayo por quimioluminiscencia (Architect de ABBOT) y ensayo cromatográfico de afinidad de boronato (Nycocard Reader).

El resultado obtenido con el D-10 de BioRad fue de: 51.4%. El método de inmunoensayo competitivo de inhibición turbidimétrico (Cobas c501 de Roche) produjo un valor de 4.61%, el método de inmunoensayo por quimioluminiscencia (Architect de ABBOT) un valor de 4.5% y el ensayo cromatográfico de afinidad de boronato un valor de 4.7% de HbA_{1c}.

Figura 1. Cromatograma del paciente para la determinación de HbA_{1c}, (HPLC), equipo D-10 BioRad.



Discusión

El método inicial para medir la HbA_{1c} del paciente fue la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), se confirmó mediante secuenciación del gen HBB que el valor falsamente incrementado de HbA_{1c} fue debido a la presencia de hemoglobina Raleigh. La hemoglobina Raleigh es una mutación puntual de timina por citosina en la segunda base del codón que codifica el segundo aminoácido de la cadena β, cambiando la valina N-terminal por un residuo de alanina. Esta sustitución no necesariamente induciría algún cambio en la carga de la hemoglobina A, excepto que las alaninas N-terminales son inmediatamente acetiladas en acetilalaninas poco después de la traducción.^{8,9} Esta acetilación disminuye la carga positiva a una similar a la de la HbA_{1c}. Por lo tanto, los tiempos de retención de la HbA_{1c} y de la hemoglobina Raleigh son virtualmente idénticos; los picos de estas dos hemoglobinas caen en la misma ventana en el cromatograma. De esta forma, la presencia de hemoglobina Raleigh produce un valor falsamente elevado de HbA_{1c} cuando se analiza por HPLC, hecho que ha sido reportado previamente en otras publicaciones.^{10,11}

Así mismo, la hemoglobina de Raleigh no puede ser detectada mediante electroforesis capilar de hemoglobina, ya que esta variante no se separa de las fracciones principales zona HB A, zona F y zona A2 y se encuentra bajo la zona de la hemoglobina A.

El método de inmunoensayo competitivo de inhibición turbidimétrico (Cobas c501 de Roche) produjo un valor de 4.61%, el método de inmunoensayo por quimioluminiscencia (Architect de ABBOT) un valor de 4.5%. Estos resultados se puede decir que corresponderían a una subestimación del valor real, debido a la condición heterocigota de la mutación del paciente. La alanina acetilada en el extremo N terminal de la cadena β de la hemoglobina Raleigh, no puede ser glicada y por lo tanto, se evita la reacción con el anticuerpo en el inmunoensayo. Cuando se calcula el porcentaje de HbA_{1c}, el numerador solo incluye a la HbA_{1c}, pero el denominador incluye tanto a la hemoglobina A como a la Raleigh, así como pequeñas cantidades de hemoglobinas A₂ y F. Por lo tanto, el porcentaje de HbA_{1c} es subestimado aproximadamente por 50%.¹

De manera similar, este valor se subestima con los ensayos de cromatografía de afinidad de boronato en personas con hemoglobina Raleigh, debido a que la acetilalanina N-terminal en la cadena β de esta hemoglobina no puede ser glicada (se obtuvo un resultado de 4.7% de HbA_{1c} con

la muestra del paciente). Esta variante (Raleigh) tiene una afinidad disminuida en la columna, aunque la columna puede interactuar con otros residuos glicados.¹⁰ Para estos pacientes se ha recomendado el uso de fructosamina¹⁰, múltiples mediciones capilares de glucosa a través del día, o un monitoreo continuo de la glicemia, en lugar de la medición de HbA_{1c} para el control glicémico.¹²

Con la automatización de los métodos HPLC para HbA_{1c}, las interferencias por variantes de hemoglobina como las hemoglobinas F y S han sido minimizadas.¹³ Sin embargo, varios reportes han descrito resultados artificialmente altos utilizando métodos de HPLC de intercambio iónico con otras variantes de hemoglobina tales como la Hb-Sherwood Forest¹⁴, Hb South Florida¹⁵, HbHope y Hb Camperdown y otros¹³.

Este caso es un ejemplo de cómo las variantes de hemoglobina pueden interferir con los ensayos de HbA_{1c} y producir resultados falsos. Por lo tanto, cuando se genera un valor de HbA_{1c} y este no concuerda con la clínica del paciente, se debe considerar la posibilidad de interferencia por este tipo de variantes, y la interpretación de HbA_{1c} debe basarse en la historia médica del paciente y otros resultados de laboratorio. Siempre se debe hacer el esfuerzo para identificar la variante de hemoglobina y tratar de seleccionar métodos alternativos libres de interferencia para monitorear el control glicémico del paciente.^{10,12} Para los pacientes con hemoglobina Raleigh, el ensayo de espectrometría de masas puede ser el mejor método, porque mide la Hemoglobina A y HbA_{1c} específicamente.¹

Otros aspectos que se deben considerar a la hora de interpretar un valor aumentado de HbA_{1c} debido a que pueden producir un falso incremento son: la presencia de eritropoyesis disminuida (deficiencia de vitamina B12 o de hierro), pacientes alcohólicos, uremia, hiperbilirrubinemia, consumo crónico de opiáceos, consumo de aspirina en grandes dosis y por largos períodos de tiempo y otras drogas de abuso.¹⁶ En el caso específico del paciente, también puede ser estar afectando su valor de HbA_{1c}, la deficiencia de hierro.

Agradecimientos

Al personal del Laboratorio de Hospital San Rafael de Alajuela, Laboratorio de Hematología Especializada del Hospital México y Laboratorio Nacional de Tamizaje Neonatal, por su valioso aporte en los análisis realizados a las muestras del paciente.

Referencias

1. Sofronescu AG, Williams LM, Andrews DM, Zhu Y. Unexpected Hemoglobin A1c Results. *Clin. Chem* 2011; 57:2; 153-157.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2010; 33 (Suppl 1):S11– 61.
3. Bry L, Chen PC, Sacks DB. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. *Clin Chem* 2001;47:153–63.
4. Weykamp CW, Penders TJ, Siebelder CW, Muskiet FA, van der Slik W. Interference of carbamylated and acetylated hemoglobins in assays of glycohemoglobin by HPLC, electrophoresis, affinity chromatography, and enzyme immunoassay. *Clin Chem* 1993; 39:138–42.
5. Mongia SK, Little RR, Rohlfing CL, Hanson S, Roberts RF, Owen WE, et al. Effects of hemoglobin C and S traits on fourteen commercial glycated hemoglobin assays. *Am J Clin Pathol* 2008; 130:136–40.
6. Ohba Y, Miyaji T, Murakami M, Kadowaki S, Fujita T, Oimomi M, et al. Hb Himeji or α -140 (H18) Ala—Asp. A slightly unstable hemoglobin with increased α -N-terminal glycation. *Hemoglobin* 1986;1 0:109–25.
7. Jeppsson JO, Kobold U, Barr J, Finke A, Hoelzel W, Hoshino T, et al. Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:78–89.
8. Marchis-Mouren G, Lipmann F. On the mechanism of acetylation of fetal and chicken hemoglobins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1965; 53:1147–54.
9. Moo-Penn WF, Bechtel KC, Schmidt RM, Johnson MH, Jue DL, Schmidt DE Jr, et al. Hemoglobin Raleigh (beta1 valine replaced by acetylalanine). Structural and functional characterization. *Biochemistry* 1977; 16:4872–9.
10. Chen D, Crimmins DL, Hsu FF, Lindberg FP, Scott MG. Hemoglobin Raleigh as the cause of a falsely increased hemoglobin A1C in an automated ion-exchange HPLC method. *Clin Chem* 1998; 44(Pt 1):1296–301.
11. Rodríguez-Romero WE, Villalobos-Fernández J, Salas-Abarca P, Hong-yuan L, Chui DHK. Hemoglobina Raleigh en Costa Rica detectada como un valor falsamente elevado de Hemoglobina glicosilada. *Rev Biomed* 2012; 23: 33-38
12. Jain N, Kesimer M, Hoyer JD, Calikoglu AS. Hemoglobin Raleigh results in factitiously low hemoglobin A1c when evaluated via immunoassay analyzer. *J Diabetes Complications* 2011; 25:14–8.
13. Halwachs-Baumann G, Katzensteiner S, Schnedl W, Pürstner P, Pieber T, Wilders-Truschnig M. Comparative evaluation of three assay systems for automated determination of hemoglobin A1C. *Clin Chem* 1997; 511–7.
14. Schnedl WJ, Reisinger EC, Pieber TR, Lipp RW, Schreiber F, Hopmeier P, Krejs GJ. Hemoglobin Sherwood Forest detected by high performance liquid chromatography. *Am J Clin Path* 1995; 104:444– 6.
15. Bodor GS, Little RR, Garrett N, Brown W, Goldstein DE, Nahm MH. Standardization of glycohemoglobin determinations in the clinical laboratory: three years of experience. *Clin Chem* 1992; 38:2414–8.
16. Unnikrishnan R, Anjana RM, Mohan V. Drugs affecting HbA1c levels. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2012, jul-Ago; 16 (4): 528-531.
17. Gray KA, Yates B, Seal RL, Wright MW, Bruford EA. *genenames.org: the HGNC resources in 2015. Nucleic Acids Res.* 2015 Jan; 43(Database issue):D1079-85. 

Tuberculosis abdominal: un reto diagnóstico. A propósito de un caso clínico

Abdominal tuberculosis: a diagnostic challenge. About a clinical case

Adriana Arias-González ^I, Alberto Josué Alfaro-Murillo ^{II}

Resumen:

La tuberculosis abdominal es una enfermedad que va en aumento. Sin embargo, su diagnóstico es desafiante debido a sus manifestaciones inespecíficas, acarreando severas complicaciones en caso de no realizarse un diagnóstico oportuno.

Se presenta un caso de una paciente femenina de 34 años de edad con historia de dolor abdominal de dos meses de evolución, quien consulta en múltiples ocasiones hasta llegar a ser intervenida por abdomen agudo peritonítico y desafortunadamente fallece en el posoperatorio inmediato.

Palabras clave: granulomas, necrosis caseosa, bacilos alcohol ácido resistente

Abstract:

Abdominal tuberculosis is an increasing disease nowadays, however, its diagnosis is challenging due to its non-specific manifestations, with severe complications in case of not making a timely diagnosis.

We present a case of a female patient of 34 years old, with two months of abdominal pain, who consulted in multiple occasions until being surgically operated on by acute abdomen and unfortunately died in the immediate postoperative period.

Key words: Tuberculosis, granulomas, caseous necrosis, bacilli

Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad que amenaza la vida, y puede afectar a cualquier órgano y sistema. Esta antigua enfermedad resurge debido a diferentes fenómenos, como la aparición del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la inmigración no controlada procedente de países donde esta infección es endémica y al uso de tratamientos inmunosupresores ¹⁻²

La enfermedad ha aumentado tanto en personas inmunocompetentes como en inmunocomprometidos. ¹

La TB abdominal es difícil de diagnosticar, al igual que cualquier otro tipo de TB extrapulmonar.

Se debe considerar siempre la posibilidad diagnóstica de tuberculosis abdominal en aquellos pacientes con enfermedades que generen inmunocompromiso de cualquier etiología, ya que es una enfermedad potencialmente tratable, que al no recibir los fármacos apropiados aumenta la mortalidad y la morbilidad.

Recibido el 06/06/2017, aceptado para su publicación el 17/07/2017

I. Médico Asistente Especialista en Anatomía Patológica, CCSS

II. Residente de Medicina Interna, Universidad de Costa Rica, CCSS

Correspondencia: greivnrr@gmail.com

Resumen del caso clínico

Se presenta el caso de una paciente femenina de 34 años, portadora de VIH sin control médico, toxicómana por cocaína y cannabis, y tabaquismo desde los 14 años; uso de alcohol ocasional; antecedentes quirúrgico de cesárea y salpingectomía 14 años atrás.

Consulta en el servicio de Urgencias por un cuadro de dos meses de evolución de dolor abdominal difuso, predominio en flanco y fosa iliaca derecha asociado a distensión abdominal progresiva. Refiere que al mismo tiempo ha presentado fiebre no cuantificada, náuseas, vómitos postprandiales, alteración en la higiene intestinal y pérdida de peso.

El dolor exacerbó en los últimos dos días previos a la consulta hospitalaria.

Al realizar el examen físico, se documentó en la paciente datos de abdomen agudo peritonítico.

La tomografía de abdomen (TAC) evidenció importante neumoperitoneo y abundante cantidad de líquido libre asociado a dilatación de asas de intestino delgado, hepatomegalia, no focalizaciones hepáticas. Vesícula con lito único, móvil, de 1.3 cm, sin colecistitis, vía biliar intra y extrahepática de calibre normal. Ante hallazgos de la TAC, se decidió llevar a sala de operaciones.

Se realizó laparotomía exploratoria más ileostomía y resección de ileon distal. Los hallazgos quirúrgicos fueron positivos por abundante líquido libre, amarillo turbio, hacia la pelvis, moderada cantidad de pus en relación a varias perforaciones de pared intestinal con focos isquémicos, abundantes adenopatías que producían engrosamiento de toda el área comprometida, así como necrosis que abarcaban zonas intestinales en 160 cm desde la válvula ileocecal, sigmoides con serositis e hígado aumentado de tamaño.

Al cumplir 24 horas de su ingreso hospitalario, paciente fallece. Como causa de muerte, sepsis intrabdominal secundaria a perforación de víscera hueca.

Hallazgos anatomopatológicos

En el servicio de Patología se recibe íleon distal que medía 102 cm de longitud por 2.5 cm de calibre. La serosa mostraba congestión y natas de fibrina. Al abrirlo se observaron múltiples úlceras cuyo fondo es necrótico. No se observaron masas. (Figura 1)

Al análisis histológico en relación con dichas úlceras (Figura 2), se observaron granulomas con necrosis central caseosa, rodeada de una corona de linfocitos. (Figuras 3 y 4). Con la tinción especial de Ziehl Neelsen se



Figura 1. Obsérvese las úlceras intestinales múltiples.

identifican bacilos alcohol-ácido resistente compatibles con *Mycobacterium*. (Figura 5)

Discusión

La TB abdominal usualmente no acompaña a la TB pulmonar activa. Aproximadamente sólo de un 15 a 25 % de los casos tienen TB pulmonar concomitante¹⁻³⁻⁴ (siendo su diseminación por vía hematogena o por deglución). Generalmente la presencia de bacilos alcohol ácido resistente solo se logra visualizar en un 3 % de las muestras histológicas¹.

Podemos clasificar la tuberculosis abdominal en cuatro grandes dimensiones, según su localización¹.

1. Tuberculosis linfadenopática abdominal
2. Tuberculosis gastrointestinal
3. Tuberculosis víscera sólida
4. Tuberculosis peritoneal

En el caso de la tuberculosis intestinal el bacilo ingresa a través de la mucosa formando granulomas en el tejido linfóide de la submucosa intestinal (por deglución de esputo contaminado, leche o comida) Después de 2 a 4 semanas, la necrosis caseosa desencadena ulceraciones en la mucosa, que se extienden a capas más profundas pudiendo incluso perforar el intestino, así como la diseminación peritoneal directa o bien a través de vía linfática¹.

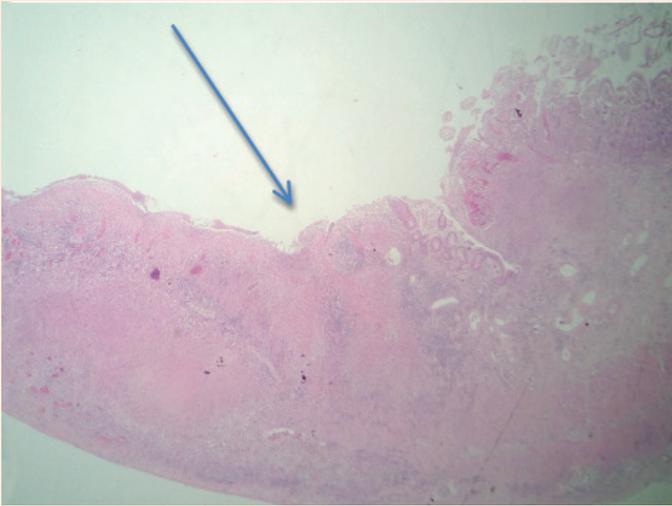


Figura 2. Ulcera intestinal, arriba en la derecha se observa mucosa conservada. 2X

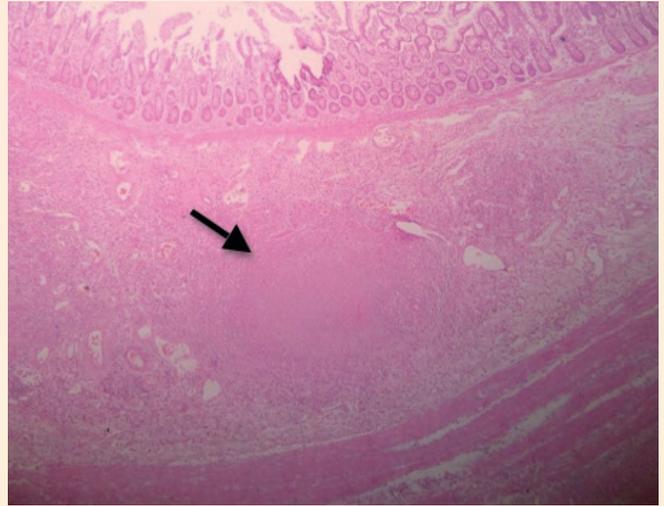


Figura 3. Granulomas submucosos. 2X

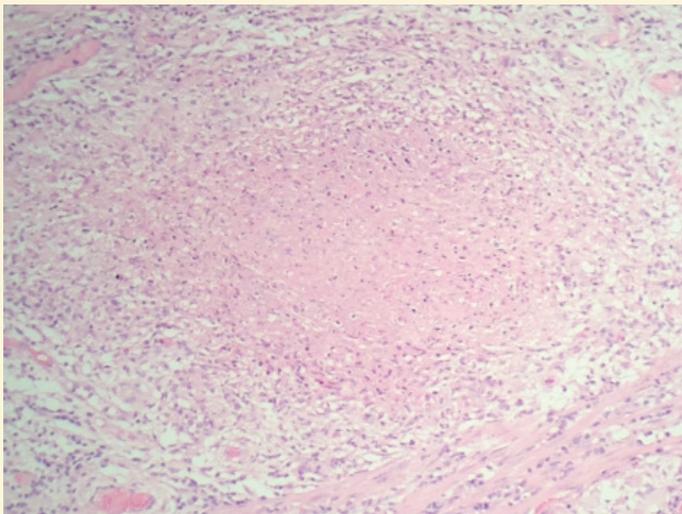


Figura 4. Granulomas con necrosis caseosa. 20X

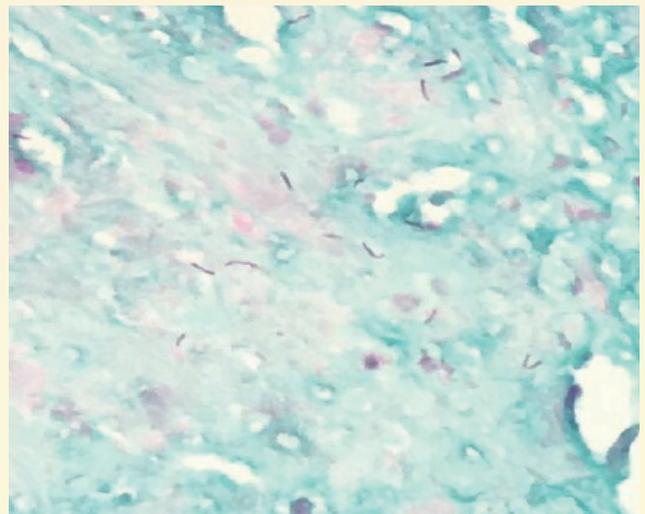


Figura 5. Bacilo ácido alcohol resistente. 100 X

Tuberculosis linfa-adenopática

Es la forma más común de TB abdominal. Afecta cualquier ganglio del abdomen, siendo los más frecuentes los ganglios mesentéricos y omentales. También porta-hepatis, cadena celiaca y región peripancreática¹.

Estos ganglios crecen de tamaño hasta formar grandes conglomerados.

Tuberculosis peritoneal

La tuberculosis peritoneal se puede clasificar en tres tipos¹:

A. Ascítica clásica. Es la forma más común. Presenta grandes cantidades de líquido libre o bien con loculaciones.

B. Tipo fibrótico. Es relativamente común. Hay fibrosis del omento y mesenterio y se caracteriza por inflamación de asas y sinequias múltiples.

C. Tipo plástica seca. No presenta ascitis. Hay una reacción fibrosa peritoneal severa, nódulos peritoneales y presencia de sinequias.

Siempre se debe tener presente que puede ocurrir una combinación de las distintas formas¹.

Tuberculosis visceral

Ocurre en un 15 a 20% de las TB abdominales⁵. El modo de diseminación es a través de vía hematógena. El tracto genitourinario es el más frecuentemente afectado, seguido de hígado, bazo y páncreas.

Tuberculosis gastrointestinal

Los sitios más comunes de infección, en orden de frecuencia, son¹: ileocecal, yeyuno, colorrectal, duodeno, estómago, esófago.

Las principales causas por las cuales la región ileocecal es la más frecuente de infección, son el hecho de que es una zona de mayor estasis y retraso del tránsito intestinal, también existe mayor cantidad de tejido linfóide y también hay mayor capacidad de absorción.

La complicación más frecuente en estos casos es la oclusión intestinal, secundaria a obstrucción del lumen por engrosamiento de la mucosa y en muchos casos acompañado por síndrome adherencial extrínseco⁶.

A inicios del Siglo XIX la causa más frecuente de abdomen agudo y obstrucción intestinal era la TB intestinal⁶.

TB duodenal

Su afectación puede ser intrínseca, extrínseca o ambas¹⁻⁷.

La forma extrínseca ocurre por linfadenopatía sobre el asa del duodeno. La forma intrínseca por afectación de la mucosa directamente y formación de lesiones ulcerativas, hipertróficas o bien úlcerohipertróficas.

El diagnóstico diferencial comprende linfoma, úlcera péptica atípica, carcinoma de cabeza de páncreas, etc.

TB gástrica

Debido a la concentración de ácido clorhídrico, es difícil que se presente¹.

Las lesiones son frecuentemente encontradas entre la curvatura menor y el píloro⁸.

TB esofágica

Es extremadamente rara, casi exclusiva del paciente con VIH¹. Ocurre con mayor frecuencia en el tercio medio del esófago y genera lesiones ulcerativas. Al igual que el duodeno, su afección más común es mediante mecanismo extrínseco. La afectación intrínseca es inusual, y se relaciona con la ingestión de esputo infectado¹.

Diagnóstico

El diagnóstico de TB intestinal debe estar basado en historia clínica y examen físico; además de complementar con algunos exámenes de laboratorio como bioquímica general y hemograma, serologías virales, carga viral VIH, carga viral CMV (citomegalovirus), conteo de linfocitos CD4, esputos por BK y reactantes de fase aguda. Usualmente la velocidad de eritrosedimentación (VES) es mayor a tres cifras.

La endoscopia digestiva representa un reto diagnóstico para el endoscopista, ya que es difícil la diferenciación de lesiones macroscópicas en el contexto de una amplia gama de posibilidades diagnósticas diferenciales. Es indispensable la toma de biopsias y cultivo.

Actualmente existen otros métodos diagnósticos por biología molecular, como la amplificación de ácidos nucleicos, que determina la presencia o ausencia del genoma del *Mycobacterium*. Por este método diagnóstico también se puede detectar el gen *ropB*/región 8 *lbp* que confiere resistencia a la rifampicina.

Tratamiento médico

Lo usual es el régimen de fármacos antifímicos tetra asociados durante 6 meses. Otros clínicos prefieren prescribir tratamiento durante 9 a 12 meses. No se ha logrado determinar mayor beneficio con tratamiento más prolongado¹⁻⁹.

Debe considerarse el inicio de la terapia antirretroviral, en caso de que el paciente sea VIH positivo.

Generalmente existe buena respuesta al tratamiento

Quirúrgico

Debe reservarse para las complicaciones: oclusión intestinal, perforación intestinal, formación de absceso o fístula.

Referencias

1. Uma Debi, Vasudevan Ravisankar, Kaushal Kishor Prasad, Saroj Kant Sinha, Arun Kumar Sharma. Abdominal Tuberculosis of the Gastrointestinal Tract: Revisited. *World J Gastroenterol* 2014 October 28; 20(40): 14831-14840
2. Burzynski J, Schluger NW. The epidemiology of tuberculosis in the United States. *Semin Respir Crit Care Med* 2008; 29: 492-498
3. Horvath KD, Whelan RL. Intestinal tuberculosis: return of an old disease. *Am J Gastroenterol*. 1998; 93:692–696
4. Akhan O, Pringot J. Imaging of abdominal tuberculosis. *Eur Radiol*. 2002; 12:312–323
5. Tirumani SH, Ojili V, Gunabushanam G, Shanbhogue AK, Nagar A, Fasih N, Chintapalli KN. Imaging of tuberculosis of the abdominal viscera: beyond the intestines. *J Clin Imaging Sci*. 2013; 3:17.
6. P. Martínez Tirado, M. López de Hierro Ruiz, R. Martínez García, J.G. Martínez Cara, M.M. Martín Rodríguez, M.M. Castilla Castellano *Gastroenterol Hepatol* 2003;26:351-4.
7. Bhatti A, Hussain M, Kumar D, Samo KA, J Coll Physicians Surg Pak. 2012 Feb; 22(2):111-2.
8. Gastric tuberculosis presenting as non-healing ulcer: case report. Chetri K, Prasad KK, Jain M, Choudhuri G. *Trop Gastroenterol*. 2000 Oct-Dec; 21(4):180-1.
9. Balasubramanian R, Nagarajan M, Balambal R, Tripathy SP, Sundararaman R, Venkatesan P, Paramasivam CN, Rajasambandam P, Rangabashyam N, Prabhakar R. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1997 Feb; 1(1):44-51. 

Caso importado de malaria por *Plasmodium vivax* detectado en un centro asistencial de la Caja Costarricense de Seguro Social

An imported case of *Plasmodium vivax* malaria detected in a medical center, Caja Costarricense de Seguro Social

Jeyson Alvarez-Campos^I, Karla Castro-Duran^{II}, Patricia Díaz-Madrigal^I, Nidia Calvo-Fonseca^{III}

Resumen:

La malaria o paludismo es la enfermedad producida por parásitos del género *Plasmodium*. En el año 2015 se estimó en 212 millones de casos y 429 000 muertes por malaria en todo el mundo. En los países de América y el Caribe, el 74% de los casos de malaria son causados por *Plasmodium vivax*. Las manifestaciones clínicas pueden dar lugar a una amplia variedad de síntomas, que van desde muy leves hasta la muerte. El período de incubación para este tipo de malaria varía de 7 a 30 días. El examen diagnóstico de referencia es la gota gruesa. En este artículo se presenta el caso de un paciente masculino, migrante, que salió desde su país de origen y pasó por Brasil, Colombia y Panamá hasta llegar a Costa Rica, donde llega en el mes de agosto de 2016 con nueve días de sintomatología febril y mialgias. Consultó en dos ocasiones al Servicio de Emergencias de un centro asistencial de la CCSS. En la primera consulta se evidenció febril y con trombocitopenia, pero debido a la negativa del paciente no se hospitalizó. La segunda ocasión consulta por el mismo cuadro clínico y es hospitalizado. Durante su internamiento cursa febril con trombocitopenia. Ante la sospecha de un cuadro de leptospirosis recibe tratamiento con penicilina sódica. Posteriormente se confirma que es un caso importado de malaria por *Plasmodium vivax*.

Palabras clave: Malaria, *Plasmodium vivax*, gota gruesa, caso importado

Abstract:

Malaria or paludism is a disease caused by parasites of the genus *Plasmodium*.

In 2015 there were an estimated 212 million malaria cases worldwide, with an estimated 429000 deaths. In Latin American countries, 74% of malaria cases are *Plasmodium vivax* infections. Clinical manifestations of malaria can give rise to a wide variety of symptoms, ranging from very mild symptoms to even death. The incubation period varies from 7 to 30 days. The diagnostic reference test for malaria is the thick blood film. The present case is a male patient, young, who left his home country, made a trip through Brazil, Colombia and Panama until arriving in Costa Rica, where he enters in August 2016, already with nine days of febrile symptomatology and muscle pain. He consulted twice the Emergency Service of a Medical Center of the CCSS, the first one he was febrile and thrombocytopenic, but due to the patient's refusal, he was not hospitalized. The second time he consulted for the same clinical picture but this time he is hospitalized. During his hospitalization he is feverish, with thrombocytopenia and treated with sodium penicillin because of the high suspicion of leptospirosis and later confirmed as a case of malaria by *Plasmodium vivax*.

Key words: Malaria, *Plasmodium vivax*, thick blood smears, imported case.

Recibido el 27/01/2017, aceptado para su publicación el 04/05/2017

I. Laboratorio Clínico, Caja Costarricense de Seguro Social

II. Medicina y Cirugía, Caja Costarricense de Seguro Social

III. Coordinadora de Centro Nacional de Referencia en Parasitología, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA)

Correspondencia: tico.jason@hotmail.com

Introducción

La malaria o paludismo es la expresión clínica de la infección en el humano por parásitos del género *Plasmodium*.⁽¹⁾

Los parásitos protozoarios del género *Plasmodium*, se transmiten de manera natural a través de la picadura del mosquito *Anopheles*. Las especies de parásitos que causan la enfermedad en el hombre son *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*; estas 2 últimas son las de mayor distribución en el mundo.⁽²⁾

Sin embargo se ha identificado una quinta especie de *Plasmodium* que puede afectar al hombre, denominado *Plasmodium knowlesi*.⁽³⁾ La existencia de este parásito se conoce desde hace más de 4 000 años y se supone su origen en África, de donde se diseminó al resto del mundo⁽⁴⁾, y es endémico en 108 países (cifras del 2014)⁽⁵⁾

Según datos de la Organización Mundial de la Salud del año 2015, se estima que cerca de la mitad de la población mundial están en riesgo de contraer malaria (6), de los cuales 1,2 mil millones están en alto riesgo; en estas zonas se produce más de un caso de la malaria por cada 1000 habitantes.⁽⁷⁾ En el año 2015 se estimó en 212 millones de casos y 429 000 muertes por malaria en todo el mundo; el 90% de todas las muertes se produjeron en África. Para el año 2013 se estimó que la enfermedad causó la muerte de unos 453 000 niños menores de 5 años, de los cuales 437 000 fueron niños africanos.⁽⁷⁾

En la subregión formada por los países de las Américas y el Caribe, el 74% de los casos de malaria son causados por *Plasmodium vivax*; entre los años 2000 y 2011 ocurrió una reducción de 70% en las muertes y 60% de los casos presentados.⁽⁸⁾

Ciclo de vida del parásito.

El ciclo de vida del parásito de la malaria implica dos hospederos. Cuando un mosquito hembra del género *Anopheles* infectada por malaria se alimenta de sangre, inocula esporozoítos en el huésped humano. Los esporozoítos infectan las células del hígado y maduran en esquizontes, formándose merozomas que son liberados a la circulación en forma de merozoítos (es de destacar que en *P. vivax* y *P. ovale* una etapa latente [hipnozoítos] puede persistir en el hígado y causar recaídas por la liberación al torrente sanguíneo semanas, o incluso años más tarde.) Después de esta replicación inicial en el hígado (esquizogonia exo-eritrocítica), los parásitos realizan multiplicación asexual en los eritrocitos (esquizogonia eritrocítica). Los merozoítos infectan las células rojas de la sangre. Posteriormente se forman trofozoítos, los cuales a su vez maduran en esquizontes, formándose

merozomas que son liberados a la circulación en forma de merozoítos. Algunos de estos parásitos siguen otro camino y se diferencian en las etapas eritrocíticas sexuales (gametocitos). Los parásitos en fase de sangre son responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Los gametocitos, masculino (microgametocitos) y femenino (macrogametocitos), son ingeridos por el mosquito *Anopheles* cuando se alimenta de sangre del humano infectado. La multiplicación de los parásitos en el mosquito se conoce como el ciclo esporogónico. En el estómago del mosquito, los microgametos fecundan los macrogametos y así se da la generación de cigotos. Los cigotos a su vez se convierten en formas móviles y alargados (ookinetes) que invaden la pared del intestino medio del mosquito en el que se desarrollan en ooquistes. En los ooquistes se da la esporogonia para dar lugar a la formación de los esporozoítos, los esporozoítos rompen el ooquiste y se liberan, y migran a las glándulas salivales del mosquito. La inoculación de los esporozoítos en un nuevo huésped humano perpetúa el ciclo de vida del parásito.⁽⁹⁾

Presentación de caso clínico

Paciente masculino, migrante, conocido hipertenso, que consulta al Servicio de Emergencias de un centro asistencial de la CCSS de la región Pacífico Central en setiembre de 2016, con historia de fiebre de seis días de evolución, vómitos, cefalea, orina oscura y mialgias.

El paciente relata que el día anterior había consultado en ese servicio y le habían indicado que debía ser hospitalizado debido a la trombocitopenia pero no accedió a hacerlo.

Indica que se encuentra de visita en nuestro país y que ingresó al mismo en el mes de agosto del 2016. Dentro de los hallazgos de laboratorio se identifica una trombocitopenia importante (31 000 plaquetas/ul). Debido a este resultado se ingresa con diagnóstico de dengue.

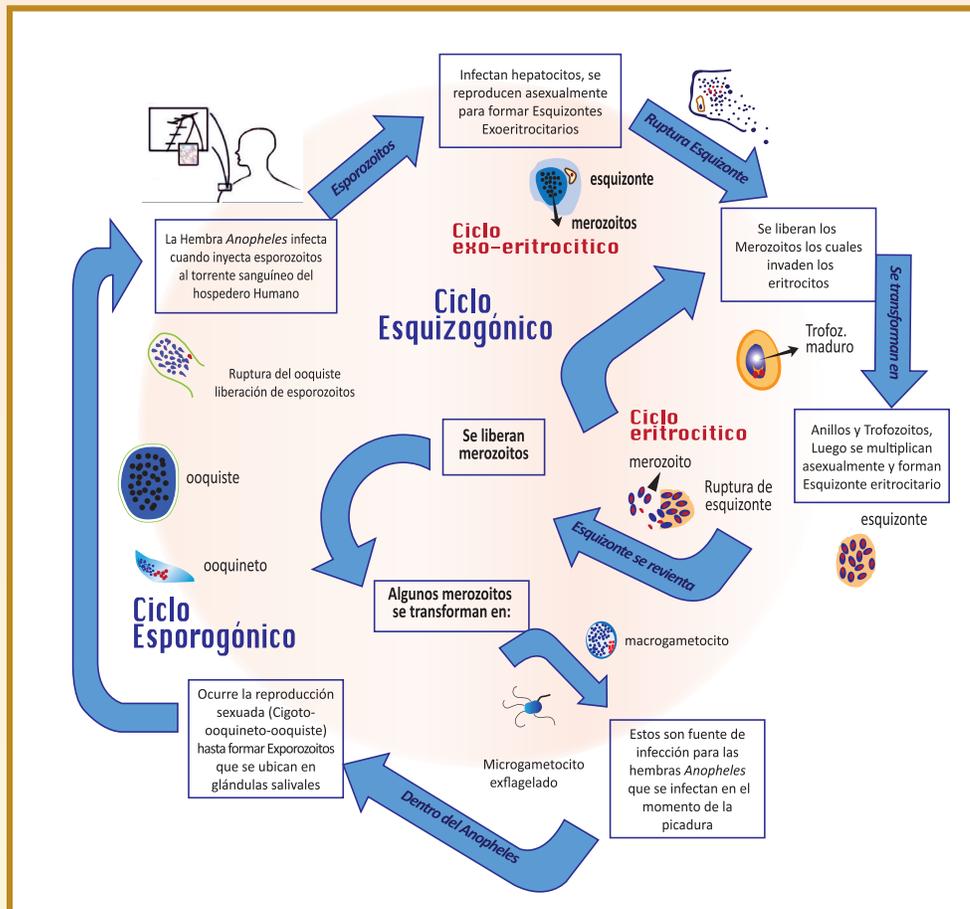
Desde su ingreso se muestra febril y se le tomó muestra para hemocultivos, radiografías de tórax y de senos paranasales, las cuales fueron normales.

El día siguiente a su hospitalización se valoran exámenes de laboratorio y los hallazgos importantes son coluria en el examen general de orina, trombocitopenia (33000 plaquetas/ul), leucocitos 5400 leucocitos/ul, pruebas de función hepática con discreto aumento de bilirrubina total y directa y leve aumento de las transaminasas. Las proteínas totales y la albúmina estaban disminuidas.

Inicialmente al correlacionar la epidemiología, el cuadro clínico y los resultados de laboratorio se sospechó

Figura 1. Ciclo de vida de *Plasmodium sp.*

Figura modificada por Dr. Alvarez (Dibujos tomados de página del CDC, fuente: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>).



de leptospirosis y de hepatitis viral, por lo que se envían exámenes de serología por hepatitis y pruebas de coagulación y se inicia cobertura antibiótica con penicilina sódica.

En el segundo día de su hospitalización durante la mañana, el paciente presenta evolución clínica satisfactoria, cursa afebril, e incluso se valora egreso al día siguiente con un nuevo control de pruebas de función hepática. Sin embargo, en la tarde el paciente presentó pico febril de 40°C sin ningún otro síntoma. Se solicita control de exámenes de laboratorio para el siguiente día de pruebas febriles, pruebas de función renal, serología por VIH y electrolitos.

El tercer día de hospitalización, el paciente se encuentra afebril, asintomático, con aumento de las plaquetas a 64 000/ul. Los resultados de las pruebas febriles, urocultivo, anti VIH y hemocultivos fueron negativos. Se decide enviar gota gruesa por hematozoarios debido a que el paciente volvió a hacer pico febril.

El cuarto día de hospitalización, se vuelve a entrevistar al paciente, e indica que salió desde su país de origen, hizo travesía por Brasil, Colombia y Panamá hasta llegar a Costa Rica, donde ingresó en el mes de agosto del año 2016. Nueve días antes de su ingreso al país inició con cuadro febril y mialgias.

El reporte de laboratorio confirma el diagnóstico de malaria, aún no tipificado. Se inicia el tratamiento con cloroquina y con primaquina y se suspende la penicilina sódica. Este mismo día se da de alta al paciente para continuar manejo por parte del área de salud. Las muestras de sangre se envían al Centro Nacional de Referencia en Parasitología, en el INCIENSA, para la tipificación del parásito. Se confirma la presencia de *Plasmodium vivax* y una parasitemia de 3 852 EAS/ul (Estadíos Asexuales Sanguíneos/microlitro) + 29 ESS/ul (Estadíos Sexuales Sanguíneos/microlitro).



Figura 3. Gametocito de *Plasmodium vivax* en frotis de sangre periférica. Obtenida del Laboratorio Clínico, CCSS, región Pacífico Central.

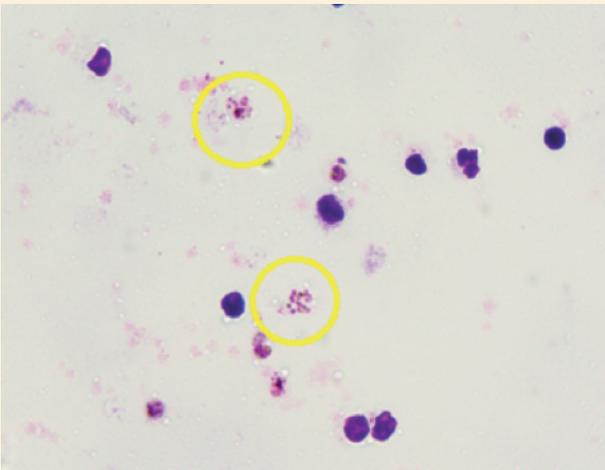


Figura 2. Esquizonte de *Plasmodium vivax* en frotis de sangre periférica. Imagen facilitada por Centro Nacional de Referencia en Parasitología, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA).



Figura 4. Esquizonte de *Plasmodium vivax* en gota gruesa. Imagen facilitada por Centro Nacional de Referencia en Parasitología, Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA).

Discusión

Las manifestaciones clínicas de la malaria pueden dar lugar a una amplia variedad de síntomas, que van desde muy leves hasta incluso la muerte. Puede ser categorizada como no complicada o grave (complicada).

Algunos de los síntomas de la categoría no complicada son la fiebre, los escalofríos, sudoración, cefalea y mialgia, y en casos menos frecuentes, el paciente puede presentar dolores abdominales, vómito y diarrea. Por otro lado, la malaria grave o complicada puede presentar una sintomatología como la malaria cerebral, fallo renal, fallo hepático, anemia grave, edema pulmonar, deficiencia de plaquetas (trombocitopenia), aumento de los niveles de bilirrubina, y de las transaminasas (como se registró en el presente caso), llegando incluso a desembocar en la muerte del paciente.^(10,11)

Los signos y síntomas clínicos de la malaria, son una expresión del daño ocasionado en diversos órganos y sistemas, dichos signos y síntomas clínicos se presentan durante el período de multiplicación del parásito en el eritrocito, mientras que el estadio hepático y durante la presencia de los gametocitos, la enfermedad se presenta asintomática. La presentación clínica de la malaria está en función de la edad, el estado inmunitario y las características genéticas del huésped, además de la especie, el genotipo y la virulencia del parásito.⁽¹²⁾

Los signos y síntomas clínicos de esta parasitosis, se presentan durante el período de multiplicación del parásito en el eritrocito, mientras que la fase hepática no está relacionado con la sintomatología. La malaria causa alteraciones funcionales y metabólicas, cuya presentación clínica está en función de la edad, el estado inmunitario y

las características genéticas del hospedero, además de la especie, el genotipo y la virulencia del parásito.⁽¹⁰⁾

De acuerdo con la sintomatología presentada por este paciente, se puede considerar como un cuadro de enfermedad no complicada.

El diagnóstico de malaria depende de la demostración de los parásitos en la sangre, a través del examen de gota gruesa el cual gracias a su capacidad diagnóstica y sus ventajas económicas y operativas, es la prueba de referencia para el diagnóstico de la malaria, con fines epidemiológicos y clínicos.⁽¹³⁾

En el presente estudio se encontraron formas evolutivas de esquizontes y gametocitos de *Plasmodium vivax*, tanto en el frotis de sangre periférica como en la gota gruesa (véase figuras 2, 3, 4).

El período de incubación en la mayoría de los casos varía de 7 a 30 días. Los períodos más cortos se observan con mayor frecuencia con *P. falciparum* (9 a 14 días), *P. vivax* (12 a 17 días) y los más largos con *P. malariae* (7 a 30 días).^(14,15) En nuestro caso el paciente refiere iniciar los síntomas nueve días antes de ingresar al país, lo cual confirma que se trata de un caso importado de malaria.

En las infecciones producidas por *P. vivax* y *P. ovale*, se pueden formar hipnozoítos, que son estados latentes del parásito, los cuales se pueden reactivar meses o años después de producida la infección.^(14,16)

La primaquina (PQ) es el único fármaco en uso para el tratamiento de la fase hepática de la infección y en asociación con un agente esquizonticida,⁽¹⁶⁾ constituye el tratamiento radical del paludismo por *P. vivax*. Esta droga también está indicada como parte del tratamiento de la malaria por *Plasmodium falciparum* debido a su acción gametocida. La Organización Mundial de la Salud recomienda el uso de PQ 15 mg al día (0,25 mg/kg) durante 14 días para el tratamiento de las formas hepáticas de *P. vivax*, considerando ampliar a 30 mg al día (0,5 mg/kg) en pacientes con malaria adquirida en zonas tropicales, particularmente en el Sudeste Asiático, Indonesia u Oceanía. Sin embargo, las guías americanas y británicas recomiendan una dosis de 30 mg al día durante 14 días independiente del lugar de adquisición.⁽¹⁶⁾

Por lo tanto, es importante que cada país se adapte a la norma emitida por cada ministerio de salud, en Costa Rica, existe la norma de Malaria del 2016, y se debe seguir en este caso lo que dicta la norma.⁽¹⁵⁾

Conclusiones

Los hallazgos del laboratorio clínico, confirmados por INCIENSA, demuestran que se trata de un caso de malaria producida por *Plasmodium vivax* adquirido en el

extranjero de acuerdo a la historia referida por el paciente. El manejo dado por el personal del centro asistencial fue oportuno, y bien medicado pues además de cloroquina se cubrió al paciente con primaquina para eliminar los hipnozoítos y evitar así una recaída a futuro.⁽¹⁷⁾

Consideramos importante que todo el personal del sector salud tenga presente de que todo paciente que resida o haya visitado un área malárica en los 40 días previos a presentar un cuadro clínico con las características anteriormente citadas, debe estudiarse como un caso sospecho de malaria.⁽¹⁵⁾

Agradecimientos

A la Dra. Adriana Chacón Leitón, anestesióloga de la CCSS, por su apoyo y colaboración en el presente estudio. Al Dr. Roberth Vega Solís, Director Médico en la CCSS, por su anuencia y motivación en este estudio. A la Dra. Jessica Morera Fernández, microbióloga de INCIENSA por su colaboración en este trabajo. A la Dra. Susana Piedra Díaz de la CCSS por facilitar información epidemiológica necesaria para el presente estudio.

Referencias

1. Tobon Castaño, A., Piñeros Jimenez, J., Blair Trujillo, S., Carmona Fonseca, J. Clínica de la malaria complicada debida a *P. falciparum*. Estudio de casos y controles en Tumaco y Turbo (Colombia). *IATREIA Revista médica Universidad de Antioquia*, 2006. 19(4), 341.
2. Marquetti, M., Velásquez, B., Cox, R. Malaria diagnosis during the training of the Cuban staff in Haiti. *Revista Cubana de medicina tropical*, 2003. 65(1), 126.
3. Sabbatani, Sergio, Fiorino, Sirio, Manfredi, Roberto. The emerging of the fifth malaria parasite (*Plasmodium knowlesi*): a public health concern?. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 2010. 14(3), 299-309.
4. Chaparro, P., Soto, E., Vargas, D. Estimación del subregistro de casos de paludismo en diez municipios de la costa del Pacífico nariñense durante 2009. *Biomedica*, 2012. 32(1), 30.
5. Morales, M., Perez, M., Guerra, H., Martinez, J., Regalado, A. *Plasmodium vivax* malaria: a case report. *Revista de Ciencias Médicas del Pinar de Río*, 2014. 18(4), 715.
6. World Health Organization. World Malaria Report 2016. Obtenido de <http://www.who.int/features/factfiles/malaria/es/>
7. World Health Organization. *Fact sheet on the World Malaria Report 2014*. Obtenido de http://www.who.int/malaria/media/world_malaria_report_2014/en/
8. Knudson-Ospina, A., Sánchez Pedraza, R., Pérez Mazorra, M., Cortés Cortés, L., Guerra Vega, A., Nicholls Orejuela, R. Perfil clínico y parasitológico de la malaria por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* no complicada en Córdoba, Colombia. *Rev fac med*. 2015. 63, 4, 595-607. doi.org/10.15446/revfacmed.v63.n4.47953
9. Centers for Disease Control and Prevention. 01 de Marzo de 2016. Obtenido de <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>

10. González D, L., Guzmán C, M., Carmona-F, J., Lopera M, T., Blair T, S. Características clínicoepidemiológicas de 291 pacientes hospitalizados por malaria en Medellín (Colombia). *Acta Medica Colombiana*. 2000. 25, 4. 163-170
11. Arboleda, M., Pérez, M., Fernández, D., Usuga, L., Meza, M. Perfil clínico y de laboratorio de pacientes con malaria por *Plasmodium vivax*, hospitalizados en Apartadó, Colombia. *Biomedica*, 2012.32 (Supl). 58-67
12. Vásquez, A., Tobón, A. Mecanismos de patogenia en la malaria por *Plasmodium falciparum*. *Biomedica*, 2012. 32 (Supl) 106-120
13. Londoño, B., Carmona, J., Blair, S. Comparación de los métodos Optimal® y gota gruesa para el diagnóstico de malaria en una zona endémica sin epidemia. *Biomedica*, 2002; 22: 466-475.
14. Centers for Disease Control and Prevention. Octubre de 2015. Obtenido de <https://www.cdc.gov/malaria/about/disease.html>
15. Ministerio de Salud de Costa Rica. Norma de Malaria. San José, Costa Rica, Ministerio de Salud. 2016. 22-26.
16. García, J., Seijo, A., Benchetrit, A., Couto, E., Echazarreta, S., Lloveras, S., Orduna, T. Malaria por *Plasmodium vivax* y falla al tratamiento radical. *Revista chilena de infectología*, 2016. 33(4), 468-47
17. Carmona-Fonseca, Jaime, Álvarez, Gonzalo, & Blair, Silvia. Malaria por *Plasmodium vivax*: curación del ataque agudo con tres dosis diferentes de primaquina y dosis fija de cloroquina. Antioquia, Colombia, 2003-2004. *Biomédica*, 2006. 26(3), 353-365. 

Plasmodium falciparum en Costa Rica. Reporte de un caso

Plasmodium falciparum in Costa Rica. A case report

Xinia Porras-Sánchez¹, Rodrigo Cruz-Jiménez¹

Resumen:

Se presenta caso de un paciente costarricense masculino de 33 años con una infección por malaria debida a *Plasmodium falciparum*. El paciente es diagnosticado al ingresar a Costa Rica posterior a un viaje al África Subsahariana. Ingresa al servicio de Urgencias con un antecedente de tratamiento incompleto para eliminar al parásito, además, datos de infección activa con presencia de parásitos en gota gruesa y prueba de inmunocromatografía positiva para *Plasmodium falciparum*, compromiso del equilibrio hemodinámico, edema en extremidades y función hepática alterada.

Debido al compromiso hemodinámico y la sospecha de presencia de anemia hemolítica se hospitaliza, donde se reanuda el tratamiento antimalárico, se medica con hidrocortisona, hierro aminoquelado y prednisolona para favorecer su recuperación. Requiere, además de transfusión de glóbulos rojos empacados para mejorar el gasto cardíaco.

Es egresado del hospital cuando se estabilizan los índices hemáticos, la gota gruesa no detecta formas parasitarias y el paciente presenta mejoría del estado general, continuando tratamiento ambulatorio con hierro aminoquelado y prednisolona.

Palabras clave: Inmunocromatografía, preeliminación, compromiso hemodinámico

Abstract:

After a trip to the sub-Saharan Africa region, a 33 year old male Costa Rican patient with an infection by *Plasmodium falciparum* was admitted in the Emergency Department, with a history of incomplete treatment to kill the parasite. In addition, the patient presented data from active infection with presence of parasites in thick drop film and a positive immunochromatography test for *Plasmodium falciparum* commitment of the hemodynamic equilibrium, edema in extremities and altered liver function. Because of the suspected presence of hemolytic anemia and hemodynamic compromise, he enters the hospital, to continue antimalarial treatment. He is medicated with hydrocortisone, iron amino chelate acid, and prednisolone to encourage his recovery. 500 cc of packed red blood cells are transfused to improve cardiac output.

He leaves the hospital when hematic rates stabilize, thick drop film were negative for parasitic forms and the general condition improves, continuing ambulatory treatment with iron amino chelate acid, and prednisolone.

Key words: immunochromatography, pre-elimination, hemodynamic compromise

Recibido el 10/07/2017, aceptado para su publicación el 21/07/2017

1. Laboratorio Clínico, Hospital Clínica Bíblica, San José

Correspondencia: xporras@clinicabiblica.com

Introducción

El término “malaria”, como se denomina a la enfermedad producida por los parásitos del género *Plasmodium*, tiene su raíz etimológica del italiano antiguo y significa mal (de malo) y aria (aire) ya que asociaban la enfermedad a los aires que venían de los pantanos durante el verano.⁽¹³⁾ También la Organización Mundial de la Salud (OMS) la denomina “paludismo”, el cual se transmite al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles* sp.⁽¹⁾

Para el año 2016, la malaria se consideró endémica en 91 países y territorios del mundo según la OMS. Este dato refleja una disminución de la endemidad de esta enfermedad respecto al año 2000, la cual abarcaba 108 países. En el período comprendido entre los años 2000 al 2015, el número de casos anuales de malaria disminuyó de 262 000 000 a 214 000 000, reflejando un descenso del 18%, y el número de muertes atribuidas a la enfermedad en el mismo período se redujo de 839 000 a 438 000 en el 2015, o sea un descenso del 48 %. Se estima que la mayoría de los casos y muertes reportados en 2015 ocurrieron en África (88 %), seguida por la región de Asia Sudoriental.⁽²⁾

Existen cinco especies pertenecientes a este género que puede infectar al ser humano: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. knowlesi*, siendo *P. falciparum* y *P. vivax* las más agresivas e importantes para la sobrevivencia del paciente.⁽¹⁴⁾ De acuerdo con las estadísticas epidemiológicas reportadas por la OMS, *P. falciparum* es la especie más prevalente en el continente africano, ya que en el año 2015 produjo en ese continente el 90% de los casos y el 92% de los fallecimientos por la enfermedad.⁽¹⁾

Los parásitos del género *Plasmodium* pertenecen al grupo de los apicomplexos. Estos organismos son parásitos intracelulares obligados con un ciclo de vida que involucra fases sexuales y asexuales en dos hospederos: los mosquitos anofelinos y el ser humano.⁽³⁾

El mosquito *Anopheles* es el hospedero invertebrado, en este se lleva a cabo las fases desde el ooquiste a partir de la fertilización en el intestino hasta la formación de esporozoitos. Los esporozoitos son las formas infectantes para el ser humano (hospedero vertebrado). Los esporozoitos son inoculados durante la picadura (alimentación) de los mosquitos *Anopheles* hembra partir de la cual van a tener acceso a los hepatocitos humanos. En el hígado se transforman en merozoitos que tienen la capacidad de entrar a la circulación sanguínea generando en el hospedero vertebrado una respuesta inflamatoria

importante y generalizada caracterizada por la liberación de citoquinas y la destrucción de los eritrocitos por la liberación de merozoitos, subsecuentemente se produce la gametogonia que, finalmente, completan su ciclo de vida al ser succionados por el vector al momento de la alimentación de las hembras.⁽³⁾

El cuadro clínico puede tener diversas manifestaciones clínicas desde asintomáticos, mostrar signos leves sobre todo en personas que han vivido largo tiempo en zonas endémicas, debido a cierto grado de inmunidad, presentan una baja parasitemia⁽⁵⁾ hasta casos graves con severas complicaciones clínicas por los síntomas de la infección parasitaria. Los síntomas de esta infección se caracterizan por escalofríos, fiebre y sudoración. La enfermedad aguda inicia con picos febriles precedidos por escalofrío y a continuación intensa sudoración. Según la especie del parásito los ciclos de fiebre y manifestaciones clínicas se repiten cada 24, 48 ó 72 horas. En el caso de las fiebres producidas durante la infección de *P. falciparum* presentan intervalos intermitentes cada 48 horas (fiebre terciana). Los primeros síntomas son poco específicos y similares a los de una infección de origen viral: dolor de cabeza, debilidad, fatiga, malestar abdominal y dolores en articulaciones y músculos.⁽⁶⁾ En el continente americano se postulan algunas teorías sobre cómo pudo ser introducido este parásito. Se ha tratado de explicar la introducción de *P. falciparum* por medio del análisis de polimorfismos SNP y microsatélites del material genético. En algunos estudios han concluido, a partir de la filogenética, que provienen de África, traídos durante la época de la trata de esclavos desde ese continente al nuestro.⁽⁷⁾ Otras investigaciones genéticas realizadas con sangre humana infectada procedente de 17 países de Latinoamérica demuestran que el *P. falciparum* se encuentra alejado de las cepas asiáticas; sin embargo, debido a las barreras geográficas de América, es posible distinguir dos posibles grupos del mismo, uno al norte y otro al sur, separados pero relacionados al origen africano.⁽⁸⁾

En Costa Rica la malaria se ha presentado con características de endemia desde 1990. El foco de transmisión era considerado por las autoridades del Ministerio de Salud como la vertiente Atlántica y de ahí se origina la dispersión hacia otras áreas del país. La OMS define así los niveles de control de la malaria: control a un nivel que la enfermedad para que no sea una amenaza pública, seguidamente la etapa de eliminación donde se observa interrupción de la transmisión local de malaria por vía vectorial en un área geográfica definida, aunque haya casos importados y finalmente erradicación, es decir, reducción a cero de la incidencia de malaria a nivel mundial.⁽⁹⁾

Reporte de Caso

Se presenta el caso de un paciente masculino de 33 años, el cual ingresa en enero del año 2017 al servicio de urgencias para ser valorado.

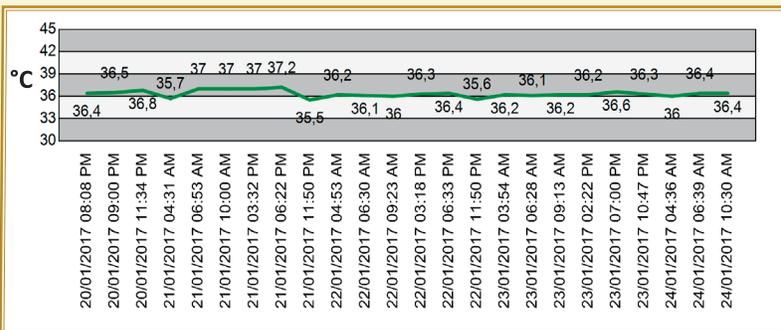
En el examen físico inicial se observa decaído, obeso, con mucosas de aspecto icterico. No se palpan ganglios, pupilas isocóricas y normoreactivas, mucosa oral seca. En el cuello no se palpa la tiroides, el abdomen blando depresible, sin masas ni hepatoesplenomegalia, peristalsis normal; se observa edema en extremidades inferiores. Pulso normal y valoración neurológica normal. En la evaluación cardiovascular se observó un soplo anémico.

Durante la entrevista refiere que tiene tratamiento con cefalosporina, niega antecedentes de hepatitis B, hepatitis C y HIV. Como antecedente quirúrgico el paciente refiere amigdalectomía en fecha desconocida.

También refiere que estuvo en países de África Subsahariana y que presentó cuadro de infección por *Plasmodium falciparum* diagnosticado días atrás en otro centro médico. Este cuadro infeccioso se trató de forma incompleta hace 10 días. Presenta nuevamente datos de infección activa con presencia de parásitos en gota gruesa y bajo gasto cardiaco por lo que se ingresa para transfusión y tratamiento.

Al ingreso al servicio del hospital el paciente se recibe consciente, orientado, comunicativo, respirando aire ambiente sin dificultad. Se solicita la recolección de los signos vitales de forma sistemática, así como la curva febril y tratamiento Artemetero/lumefantrina - Oral (4 unidades vía oral cada 12 horas durante 3 días).

La curva febril presenta los siguientes datos:



El día de ingreso muestra alteraciones en los siguientes análisis (los rango de referencia se encuentran entre paréntesis) en el tiempo de trombina 15.9 s con 76 % actividad (13.2 s, 100 % actividad), bilirrubina total de 2,68 mg/dl (0.1 mg/dl – 1.2 mg/dl), aspartato aminotransferasa (AST) en 84.7 U/l (5 U/l -40 U/l), deshidrogenasa láctica (DHL) en 1479 U/l (135 U/l -225 U/l) y proteína C

reactiva 21.4 mg/l (negativo menos de 8.0 mg/l). El hemograma mostró anemia con 8.6 g/dl (14.0 g/dl -17.5 g/dl) de hemoglobina, la morfología de los glóbulos rojos mostró anisocitosis por microcitos, macrocitos, basofilia difusa y punteado basófilo y número de plaquetas en 112,100 / μ l (172.0 x 10³ / μ l.– 450.0 x 10³ / μ l.)

El día 1, dado el compromiso hemodinámico del paciente detectado durante la valoración en urgencias se decide transfundir con dos unidades de glóbulos rojos empacados.

En los siguientes tres días se realizan hemograma, creatinina, nitrógeno ureico, ALT, AST, bilirrubina total y fraccionada, fosfatasa alcalina, gama glutamil transferasa y DHL, mostrando resultados dentro de límites normales. En el día 2 se le solicita un estudio por hematozoarios que incluye la técnica de gota gruesa y una prueba inmunocromatográfica del antígeno HRP-II del *P.falciparum*, que también determina otros antígenos de *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale* y da positivo por *P. falciparum*.

Se envía una muestra de sangre al Centro Nacional de Referencia de Parasitología del INCIENSA para su análisis, el cual no se realiza ya que anteriormente había dado positivo por *Plasmodium falciparum* por gota gruesa y por la técnica de detección de ácidos nucleicos reacción en cadena de la polimerasa PCR.

Al quinto día (día del egreso), el valor de hemoglobina fue de 9.85 g/dl

El tratamiento farmacológico durante el internamiento consistió en albúmina humana 50 ml cada 8 horas, Artemetero/lumefantrina 4 unidades unidades vía oral cada 12 horas durante 3 días, hidrocortisona 50 mg vía intravenoso cada 8 horas, hierro aminoquelado 800

mg oral diarios, esomeprazol 40 mg intravenosos por día y prednisolona 20 mg vía oral por día.

Finalmente, cinco días después es dado de alta por el médico infectólogo en condición de evolución satisfactoria, sin fiebre, tolerando bien la dieta, sin datos de gasto cardíaco bajo. Mantiene el nivel de hemoglobina estable (9.85 g/dl) y aumento del recuento plaquetario (213 000/ μ l). Continúa el tratamiento con hierro aminoquelado y prednisolona.

Discusión

En Costa Rica el documento “Plan de eliminación de la malaria en Costa Rica, 2015-2020” redactado por el Ministerio de Salud ubica el contexto epidemiológico actual de nuestro país respecto a la malaria. De acuerdo

con ello Costa Rica se ubica en la lista de países en fase de pre-eliminación para OMS/OPS.

Costa Rica reportó en el año 2013, según el informe del Plan para la eliminación de Malaria del 2015 emitido por Ministerio de Salud: seis casos de los cuales dos casos fueron autóctonos uno por *P. malariae* y otro por *P. vivax*. Los cuatro casos restantes fueron importados de Mozambique, Honduras, Nicaragua y Perú.

En el año 2014 se registraron también seis casos, de los cuales 5 se clasificaron como importados: 3 casos por *P. falciparum* provenientes de África y 2 casos por *P. vivax*. El quinto caso se debió a una recrudescencia por *P. malariae* en una zona sin evidencia de transmisión desde hace varios años.⁽⁹⁾

Para el año 2016 Costa Rica fue premiada por la OMS/OPS pues desde el 2013 el país no reportó casos autóctonos de la enfermedad, gracias a la puesta en marcha de su Plan Nacional para Eliminar la Malaria. Este plan incluye acciones como el tratamiento supervisado y las visitas domiciliarias de los Equipos Básicos de Atención Integral (EBAIS) y la disponibilidad de una red de 126 laboratorios integrados en la atención de la malaria. La red de salud ha posibilitado detectar rápidamente la enfermedad y prevenir brotes.⁽¹⁰⁾ En el año 2014 nuestro país presentó una incidencia parasitaria anual (IPA) de 0,003 por mil habitantes (6 casos en total), lo que lo coloca en fase de pre-eliminación⁽⁹⁾, según los indicadores que maneja el Ministerio de Salud.

El caso clínico descrito, por la valoración epidemiológica es un caso no autóctono, producto de movimientos migratorios que causan un impacto importante en los sistemas sanitarios, máxime en momentos donde se pretende la erradicación de una enfermedad por lo que es imprescindible caracterizar adecuadamente el origen y disminuir el riesgo de transmisión en el país de acogida por medio de un cribado oportuno, específico y sensible en cuanto al desempeño de los métodos diagnósticos.⁽⁵⁾

Respecto al diagnóstico sugerido por las autoridades sanitarias “Plan de eliminación de la malaria en Costa Rica, 2015-2020” el objetivo es mejorar el diagnóstico microscópico por medio de entrenamiento y definición de procedimientos en técnicas como gota gruesa y tinción de Giemsa acompañado por el diagnóstico molecular. En este caso es posible determinar en un primer análisis de gota gruesa algunas formas parasitarias, a pesar de que el paciente venía parcialmente tratado de otro centro médico. El segundo estudio por hematozoarios demostró la efectividad del tratamiento pues en la segunda gota gruesa no se observó formas parasitarias en sangre periférica. Complementariamente a la gota gruesa se

realizó la técnica rápida inmunocromatográfica para la determinación de antígenos parasitarios como la Proteína Rica en Histidina II (HRP II), específica para *P. falciparum* y la aldolasa que se relaciona diagnósticamente con el género *Plasmodium sp.*, por medio de anticuerpos monoclonales.⁽¹¹⁾

El paciente presentó persistencia del antígeno HRP II, en una segunda prueba, a pesar de que ya la observación directa del parásito se reportó negativa. El antígeno es producido por el parásito durante la invasión parasitaria, sin embargo, un resultado positivo no necesariamente implica la presencia viva del parásito en el hospedero pues es posible que los antígenos persistan aun cuando los parásitos infectantes hayan muerto o formas de gametocitos que no causan la enfermedad. Es importante que los profesionales del laboratorio clínico analicen los resultados positivos en la pruebas serológicas (inmunocromatografía de antígenos parasitarios) en forma concomitante con otras pruebas como la PCR o la gota gruesa debido a la posibilidad que se presenten falsos positivos por interferentes. La presencia de los parásitos no siempre implica la existencia de sintomatología en individuos con inmunidad alta y portadores en zonas endémicas, ya que puede haber otras causas de la fiebre⁽¹²⁾.

Este caso presentó evidencia de complicaciones hemodinámicas debido a una probable hemólisis, la cual pudo ser detectada gracias a la valoración inicial del gasto cardíaco. Posteriormente por el seguimiento de los hemogramas se pudo comprobar que la hemoglobina no tuvo cambios significativos en su nivel a pesar de que el paciente fue transfundido con glóbulos rojos empacados. Por tal motivo, el abordaje en seguimiento de los índices hemáticos de la fórmula roja y el médico le prosigue tratamiento con hierro para que la recuperación fuera satisfactoria.

Es importante conocer los alcances diagnósticos de las técnicas de laboratorio clínico. Al respecto, el Centro Nacional de Referencia de Parasitología del Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA) ha coordinado capacitaciones cuyos objetivos nacionales son: estandarización de la técnica de coloración con Giemsa en la red nacional de laboratorios, búsqueda de asintomáticos en focos residuales y/o nuevos, mediante gota gruesa y pruebas y evaluación externa del desempeño de los laboratorios de la red nacional.⁽⁹⁾

El personal del laboratorio debe estar entrenado en la observación y el montaje de las pruebas de diagnóstico microscópico, con el fin de apoyar al equipo médico que aborda a los pacientes con malaria y a mejorar la calidad de los datos epidemiológicos de nuestro país con respecto

a esta enfermedad, además que puedan interpretar adecuadamente otras pruebas diagnósticas para mejorar el seguimiento de los pacientes.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud WHO. [En línea].; 2017 [citado 2017 junio 7]: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/es/>.
2. World Health Organization. WORLD MALARIA REPORT 2016. Summary. Geneva.; 2017.
3. Magdalena P. Malaria. Parásitos. 2017 enero-marzo; 68(1).
4. Wilson G, Camponovo E, Neira P, Subercasiux B, Muñoz N. Malaria por Plasmodium falciparum en el servicio de medicina del Hospital San Camilo de San Felipe. Parasitología Latinoamericana. 2006; 61: p. 82-85.
5. El cribado de las enfermedades parasitarias en la población inmigrante asintomática. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2016;(34 (Supl 3)): p. 25-31.
6. Organización Panamericana de la Salud. Guía para la atención integral del paciente con malaria. 2010.
7. Yalcindag E, Elguero Eea. NCBI. [En línea].; 2012 [citado 2017: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1119058109].
8. Institut de recherche pour le développement. Paludismo: ¿cómo ha llegado a América? Actualité scientifique. 2012 enero;(394).
9. Grupo Técnico Nacional de Enfermedades Vectoriales. Ministerio de Salud. Plan de eliminación de la malaria en Costa Rica 2015-2020. 2015..
10. Ministerio de Salud. Gobierno del Salvador. Ministerio de Salud. Gobierno del Salvador. [En línea].; 2016 [citado 2017 julio 4: <http://www.salud.gob.sv>].
11. Abon Biop harm Co. Ltd. Abon Plus. Malaria P.f/Pan Rapid Test Device (Whole blood). 2014.
12. Organización Mundial de la Salud. World Health Organization Web site. Uso de las pruebas de diagnóstico rápido de la malaria. [En línea].; 2006 [citado 2017 julio 9. http://www.wpro.who.int/publications/docs/Malaria_RDT_2ndEd_Spanish.pdf].

Cartas al editor

El paludismo, la quinina y la cinchona Algo para recordar

Luis F. Rojas-Solano

El Paludismo

El paludismo, del latín *palus, paludis* = pantano, es una enfermedad infecciosa, endémica, producida por especies de *plasmidios* y transmitida por las hembras de mosquitos del género *Anopheles* infectados con el protozoario. En el hombre, las especies causales son el *P. falciparum*, el *P. vivax*, el *P. ovale* y el *P. malariae*, parásitos intracelulares obligados del género *Plasmodium*. Como nota adicional digamos que al agente infeccioso se le bautizó como hematozoario de Laveran en honor al científico francés Charles A. Laveran, ganador del premio Nobel de medicina de 1907, por sus investigaciones sobre el papel de los protozoarios como agentes morbosos.

La enfermedad, conocida también como *malaria* (del italiano *mala aria* = mal aire), se caracteriza por fiebres intermitentes y remitentes: esplenomegalia (bazo aumentado de tamaño) y presencia del parásito en la sangre, cuyos eritrocitos son invadidos y posteriormente destruidos. El paludismo persiste como la parasitosis de seres humanos más devastadora del mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que durante el año 2015 se presentaron alrededor de 212 millones de casos de esta enfermedad, de los cuales 429 000 fallecieron. La infección por el *P. falciparum* es la principal causa de esta mortalidad, que predomina en niños menores de 5 años, en mujeres embarazadas y en individuos no inmunes. Aunque el paludismo transmitido por mosquitos casi se ha eliminado en algunas partes del mundo, su prevalencia, cada vez mayor en muchos países de los trópicos, en especial en África subsahariana, representa una importante carga en la salud y las economías locales y un serio riesgo para quienes viajan desde áreas no endémicas.

En casi todos los seres humanos, la infección se lleva a cabo por la picadura de mosquitos del sexo femenino infectados con *esporozoítos* del protozoario. Al ocurrir la picadura, los parásitos pasan rápidamente al torrente sanguíneo de la víctima y de aquí se movilizan hacia el hígado, donde se multiplican y desarrollan hasta la

etapa de *esquizontes* tisulares. Esta fase es asintomática y se le llama *preeritrocítica* o exoeritrocítica y dura de 5 a 15 días, según la especie de *Plasmodium* inoculada. Posteriormente se forman los merosomas que se rompen y liberan miles de otras formas del parásito que salen a la circulación, penetran los glóbulos rojos e inician así la fase *eritrocítica* de la infección. En el interior de los eritrocitos, los parásitos pasan por una fase de desarrollo asexual hasta llegar a esquizontes maduros. Los glóbulos rojos infectados se rompen y liberan otras formas del plasmodio, en un número que varía de la especie infectante y este proceso es lo que justamente ocasiona el ataque febril. Estas nuevas formas liberadas invaden otros glóbulos rojos y continúan el ciclo que, de prolongarse, puede llegar hasta la muerte del huésped. La periodicidad de este fenómeno concuerda con las manifestaciones febriles: en el caso del *P. falciparum*, del *P. vivax* y del *P. ovale*, se necesitan unas 48 horas para completar este ciclo. La ruptura sincrónica de los eritrocitos acompañada de liberación de los parásitos en la circulación ocasiona los característicos ataques febriles en los días uno y tres, por lo cual esta forma de paludismo ha sido llamada *terciana*. En el caso del *P. malariae*, el proceso necesita casi 72 horas, con lo cual los ataques de fiebre se producen en los días uno y cuatro. Este es el paludismo llamado en *cuartanas*.

Cada especie de *Plasmodium* posee características morfológicas propias y da lugar a una enfermedad que tiene también características propias. La forma más peligrosa para el ser humano es la producida por el *P. falciparum*. En este caso la parasitemia es abrumadora y se acompaña de secuestro de las células rojas infectadas en la microvasculatura periférica. Esto se acompaña de hipoglicemia, hemólisis y choque con insuficiencia de diferentes órganos.

TRATAMIENTO

Desde la más remota antigüedad, el hombre, en su afán por recuperar la salud perdida, ha vuelto sus miradas hacia lo que la propia naturaleza puso en su entorno: el universo físico de los vegetales, de los animales y de los minerales. Los griegos utilizaron el término *pharmakon*, para referirse a las sustancias de propiedades curativas

presentes en los tres reinos naturales. Esta voz griega significa “remedio” o fármaco. Curar el cuerpo y el alma y preparar medicinas en muchas culturas, fueron tarea de una misma persona: un sacerdote, un brujo o un curandero.

El paludismo y La dorada leyenda de la quina

Los indígenas de los países sudamericanos fueron muy golpeados por esta agresiva y mortal infección por lo cual, desde tiempos precolombinos, los médicos aborígenes de sus diferentes culturas tuvieron que lidiar con este mal. Los incas, al igual que los habitantes de otras regiones, tenían gran conocimiento de las plantas alimenticias y curativas y en su incesante búsqueda encontraron un aliado poderoso para combatir la malaria: el árbol de la quina, poseedor del “ingrediente milagroso” que les permitió aliviar o atenuar aquellos enloquecedores ataques febriles que caracterizan a la malaria.

Nos cuenta la historia de la medicina sudamericana la interesante dorada leyenda de la quina: *“se cuenta que muy cerca de Loja, existía un hermoso lago, en cuyas márgenes crecían árboles cuyas corpulentas raíces se hallaban sumergidas en el agua, mezclándose con las cortezas y las médulas de los árboles. Los indígenas, que tenían por costumbre ir a aplacar la sed en sus aguas, notaron que éstas habían cambiado de sabor transformándose en amargo. Muchos de ellos eran “febricentes”, acudían con sed doblada por la calentura y el agua no sólo les aplacaba la sed sino que los curaba de sus fiebres. Comprobaron que era la corteza la que comunicaba el sabor amargo y que las raíces, cuando habían permanecido mucho tiempo bajo el agua, perdían este sabor y su cualidad febrífuga”*.

La quina y la quinina.

La **quinina** es el principal alcaloide de la corteza del árbol de la **quina** y de otras especies del mismo género de la familia de las Rubiáceas, que consta de dos subfamilias:

- a) Cinconoideas o cinchonoideas y
- b) Cofeoides

En la primera subfamilia encontramos las plantas del género **Cinchona**. Este género “cobija” unas treinta especies de los trópicos sudamericanos. En forma silvestre crecen en los valles de los Andes entre 1200 y 3000 m de altura. Se extienden desde el sur de Bolivia hasta el norte de Venezuela. La variedad conocida como *succirubra* crece en Ecuador. En Costa Rica se cultiva en Zarcerro, en la Cinchona y, en forma silvestre, se ha reportado en San Ramón. De las variedades *succirubra*, *calisaya*, *ledgeriana*, *officinalis* y de otras, se usa la corteza en la medicina popular (corteza de quina, *Cortex chinæ*) y de esa corteza se extrae la quinina, que es su principio

activo. La corteza del árbol ha recibido distintos nombres, muy descriptivos, como veremos más adelante: corteza peruana, corteza de los jesuitas, corteza del cardenal y otros. El árbol de la quina puede llegar a medir hasta 25 m de alto y el tronco puede llegar a un diámetro de 1,5 m.

El nombre “cinchona” que se utiliza para hacer referencia al género al que pertenecen estas especies, fue escogido por **Linneo**, el famoso nomenclaturista, médico y botánico quien aparentemente delectó mal el nombre del conde de Chinchón, virrey del Perú, un personaje ligado por la historia y por la leyenda, al famoso árbol sudamericano. Según otros historiadores, el nombre de quina, deriva de un vocablo inca, **kinia**, que significa corteza.

El género **Coffea** de la segunda subfamilia comprende unas 25 especies entre las cuales se localiza la planta del café, la de nuestro grano de oro: *Coffea arabica*, aunque se originó en Etiopía y el Cabo de Hornos. El cafeto, incansable viajero a través del tiempo, “desembarcó” en Costa Rica, según cuenta la historia, proveniente de Cuba, en 1790.

Volviendo a nuestra historia, los médicos indígenas sudamericanos, conservaron en secreto el conocimiento sobre las propiedades curativas de la corteza del árbol de la quina y por muchos años lo ocultaron a los españoles. Finalmente los europeos se enteraron del asunto allá por el año 1600, cuando un cacique indígena, después de convertirse a la religión de los extranjeros, curó a un religioso jesuita que padecía de fiebres, con una preparación de la corteza del árbol. Aparentemente, el primer testimonio escrito sobre el uso de la cinchona apareció en un libro religioso escrito por un monje agustino llamado **Calancha**. En 1633, este individuo escribió el siguiente párrafo: *“un árbol que ellos llaman el árbol de la fiebre que crece en el país de Loxa, cuya corteza, del color de la canela, pulverizan y con pequeñas cantidades preparan una bebida que cura las fiebres tercianas, ha producido resultados milagrosos en Lima”*. El libro fue publicado posteriormente en España (1639).

Otra versión popular de esta historia nos cuenta que en 1638, la esposa del virrey de Perú, el **conde de Chinchón** desarrolló episodios de fiebre. Doña Ana de Chinchón fue entonces tratada con un material obtenido de la corteza del árbol y se recuperó de una manera asombrosa. Más tarde, al ocurrir una epidemia del mal, la condesa, que ya poseía el secreto, accedió a administrar a los pacientes y con sus propias manos, el polvo milagroso preparado a partir de la cáscara o corteza del árbol de la fiebre. Por muchos años el remedio fue conocido como “los polvos de la Condesa”. La extraordinaria curación de la virreina, estimuló la introducción de la cinchona en España en 1639 pues el virrey, entusiasmado, envió a su país, un gran cargamento de material obtenido de los árboles de la quina. No es de extrañar entonces, que hacia 1640, la corteza ya fuera usada en Europa para combatir las fiebres. En la literatura médica europea, su uso fue

mencionado por primera vez en 1643, por el médico belga *van der Heyden*. En 1677 la cinchona fue incluida en la Farmacopea Londinense con el nombre de *Cortex peruanus*. Se dice que los jesuitas fueron los principales importadores y distribuidores de la cinchona en el viejo continente por lo que se le conoce con el nombre de “corteza de los jesuitas”. La famosa “corteza del Perú” fue patrocinada en Roma por un eminente cardenal y filósofo de apellido de Lugo, lo que originó el nombre de “corteza del cardenal”.

En 1820, los químicos y farmacéuticos franceses *Pierre Joseph Pelletier* y *Joseph Bienaimé Caventou* aislaron la quinina y la cinchonina de la *C. cordifolia*. El alcaloide (término genérico de compuestos orgánicos naturales de estructura compleja) aislado permitió a los médicos tratar a los pacientes palúdicos con dosis exactas del principio activo y sustituir así aquel extracto excesivamente amargo, preparado con la corteza del árbol, cuya concentración de quinina era incierta, ya que el contenido de alcaloide varía dependiendo de la especie de cinchona utilizada.

La cinchona en Costa Rica

La exagerada explotación de las formas silvestres del árbol de la quina para exportar su corteza, que era utilizada para preparar infusiones y, más tarde, como materia prima para aislar el alcaloide en estado puro, hizo que, a mediados del siglo XIX, el mundo occidental se diera cuenta de que las reservas de quina en los países andinos se estaban agotando. Según algunos historiadores, los ingleses cultivaron el árbol en la India y en Sri Lanka, pero con resultados más bien pobres. Los holandeses tuvieron más éxito y consiguieron cultivarlo en gran escala en Indonesia, especialmente en su colonia de Java, utilizando semillas de *C. ledgeriana* recogidas en las orillas del río Mamoré, en Bolivia.

Al estallar la Segunda Guerra Mundial en 1939, miles de soldados fueron enviados a territorios inhóspitos plagados de mosquitos capaces de transmitirles enfermedades mortales. El paludismo y sus terribles fiebres, eran los compañeros inseparables de los soldados enviados a los frentes de batalla, independientemente de su nacionalidad. Para citar un ejemplo: en la campaña de Birmania en 1943, por cada soldado aliado herido, enfermaron de paludismo 120 y la tasa de la enfermedad en todo el personal fue de 84%. El tratamiento más efectivo para los períodos febriles de la malaria era la quinina. Cuando los ejércitos japoneses invadieron Indonesia, el trasiego de árbol de la quina hacia occidente se interrumpió drásticamente.

Esto obligó a las fuerzas aliadas a buscar otras áreas del hemisferio occidental en las que se pudiera cultivar el árbol de cinchona. Parece que en las montañas de nuestro Sarapiquí fueron localizados árboles de la quina en estado silvestre, lo que impulsó a los norteamericanos

a solicitarle al gobierno de entonces, encabezado por el Dr. Calderón Guardia, el arriendo de una área de unas 2.300 hectáreas para la siembra del árbol de cinchona. La aprobación de la solicitud contó con el beneplácito de nuestros ciudadanos, sobre todo por el hecho de que Costa Rica le había declarado la guerra a las potencias del eje varios años antes. Corría el año 1943 y, desde entonces el centro de operaciones del proyecto pasó a ser conocido como La Cinchona. El asentamiento estaría ubicado en “algún lugar” en la ruta de Varablanca y San Miguel de Sarapiquí.

Los “machos” (como los llamaban nuestros coterráneos), invirtieron una millonada en recursos para lograr su propósito, pero a última hora, el proyecto se malogró porque la especie o las especies traídas a Costa Rica, no se adaptaron a las condiciones topográficas, climáticas, o ambas, de la región en donde se plantaron. Curiosamente las especies autóctonas o silvestres sí se desarrollaban bien. La guerra estaba en sus etapas finales. Por otra parte, la investigación científica en torno a la síntesis en el laboratorio de drogas antimaláricas había dado excelentes frutos y la medicina ya tenía a mano un arsenal de drogas artificiales efectivas para combatir el paludismo. La quinina ya no era tan importante.

La Segunda Guerra Mundial finalizó en 1945. Los norteamericanos abandonaron el proyecto (1948). Las magníficas instalaciones quedaron “tiradas” en la zona. Por un tiempo, la Junta de Gobierno de la Segunda República fundó allí una colonia agrícola-militar. Luego de que los militares dejaron el lugar, éste fue cedido al Ministerio de Trabajo y Previsión Social con la idea de hacer una cooperativa de agricultores. Esto tampoco duró mucho y finalmente apareció en la escena el Instituto de Tierras y colonización que dividió el terreno en parcelas que se adjudicaron prontamente.

El final de una época

Las magníficas instalaciones y las hermosas casas y campamentos que los norteamericanos habían construido fueron presa, lenta pero inexorablemente, del abandono o de la mano destructora del hombre. Lo que sí quedó fue la belleza de aquel paraje, causa de admiración de cuantos lo visitamos. Nadie podía imaginar siquiera que poco más de medio siglo después, unos segundos de furia natural iban a cambiar la fisonomía de aquel lugar que la propia naturaleza había conservado con tanto esmero. Un movimiento sísmico de gran intensidad ocurrido en enero del 2009, prácticamente borró aquel poblado de la faz de la Tierra. Ya no forma parte de aquel entorno de exuberante belleza, de aquel tesoro natural, uno de los tantos que con que ha sido bendecido nuestro pequeño terruño. La Cinchona es hoy sólo un nombre, un recuerdo que perdurará en las mentes de quienes la conocimos. ④

Primer Simposio del Grupo Costarricense de Medicina Transfusional

César Cerdas-Quesada¹



El Grupo Costarricense de Medicina Transfusional (GRUCOMET), fue establecido en el año 2016 por el Dr. César Cerdas-Quesada como foro en línea dentro del AABB HUB, cuenta con miembros de diferentes países (Costa Rica, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Panamá, Perú y Argentina). Los miembros están conectados en línea a través de foros en la página patrocinada por la AABB.

El I Simposio del Grupo Costarricense de Medicina Transfusional se organizó en San José, Costa Rica, del 4 al 6 de abril de 2017. El tema de las conferencias fue Actualización en Inmunohematología. Contó con el aval de la Comisión del Colegio de Microbiólogos Y Químicos Clínicos de Costa Rica (24 horas, participación), el Banc de Sang i Teixits de Barcelona, España y la Asociación Americana de Bancos de Sangre.

Un total de 59 participantes asistieron al simposio en representación de seis países (Costa Rica, Perú, México, Panamá, Colombia y El Salvador).

Se contó con la participación de los Dres. Eduardo Muñoz-Díaz, Virginia Callao Molina, Asunción Pinacho del Banco de Sang i Teixits de Barcelona, España y la Dra. María Leonor Portillo López del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI de la Ciudad de México, México, así como la presentación de casos clínicos por parte de la Dra. Patricia Contreras del Hospital Calderón Guardia.

El programa científico se basó en los siguientes puntos:

- Conceptos básicos en Inmunohematología. Grupos sanguíneos
- Problemas en la determinación del Grupo ABO
- Problemas en la tipificación del antígeno Rh (D)
- Transfusión en el paciente con anticuerpos eritrocitarios
- Transfusión en el paciente con una prueba de antiglobulina positiva directa
- Actualización sobre la gestión de la Enfermedad Hemolítica del Feto y el Recién Nacido
- Diferentes módulos de casos clínicos para establecer una mejor comprensión tanto teórica como práctica.

Los asistentes plantearon las siguientes recomendaciones:

- Fomentar la investigación en el campo de la inmunohematología y banco de sangre entre los países centroamericanos.
- Promover actividades educativas en la región.
- Participar activamente en los foros en línea.
- Compartir contactos en caso de dudas.

Hubo una retroalimentación muy positiva de los asistentes con respecto al programa y al evento en general. Agradezco el apoyo prestado por la PROMED y el Banc de Sang i Teixits de Barcelona, España.

Esperamos verlos de nuevo en la reunión del 2018. 

¹ Grupo Costarricense de Medicina Transfusional.
Correspondencia: cesar.cerdas@hotmail.com

Próximos eventos



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/>

Congreso Nacional de la Sociedad Francesa de Microbiología
9 a 11 de octubre de 2017
Ciudad de las Ciencias y de la Industria, París, Francia
<http://www.sfm-microbiologie.org/>

El diagnóstico temprano de los trastornos genéticos salva las vidas de los niños: Una discusión sobre los méritos y el proceso para implementar el tamizaje neonatal con éxito
13 de octubre de 2017
Cali, Colombia
<https://www.aacc.org/store/conferences/11600/newborn-screening-for-metabolic-diseases-saves-childrens-lives-a-symposium-to-define-the-needs-f>

80 Aniversario del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri, 9º Congreso Nacional de Microbiología y Parasitología, 6º Congreso Nacional de Medicina Tropical y Simposio Internacional sobre Infección VIH/SIDA en Cuba
05 a 08 de diciembre de 2017
La Habana, Cuba
www.microbiologia2017sld.cu

MicroBiotec 2017
Congreso de Microbiología y Biotecnología 2017
Sociedad Portuguesa de Microbiología
7 a 9 de diciembre de 2017
Porto, Portugal
<http://www.spmicrobiologia.pt/>

59th American Society of Hematology Annual Meeting & Exposition
9 a 12 de diciembre 2017
Atlanta, Georgia, U.S.A.
www.ash.or

XXIV Congreso Latinoamericano de Parasitología 10 a 14 de diciembre de 2017
Santiago, Chile
www.flap2017.com

70th AACC Annual Scientific Meeting and Clinical Lab Expo
29 de julio a 2 de Agosto de 2018
Chicago, Illinois, U.S.A.
<https://www.aacc.org/lp2/70th-aacc-annual-scientific-meeting-and-clinical-lab-expo>

XIV Congreso Internacional de Parasitología (ICOPA)
19 a 23 de agosto 2018
Daegu, Corea del Sur
http://www.wfpnet.org/tab_icopa.php

XXIV Congreso Latinoamericano de Microbiología – XL Congreso Chileno de Microbiología
13 a 16 de noviembre de 2018
Viña del Mar, Chile
<http://somich.cl/xiv-congreso-latinoamericano-de-microbiologia-xl-congreso-chileno-de-microbiologia/>



Instrucciones para los autores

Actualizadas a agosto 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/) y con las características editoriales para revistas impresas del Catálogo Latindex (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.cendeiss.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.

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@microbiologos.cr. 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. 





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.

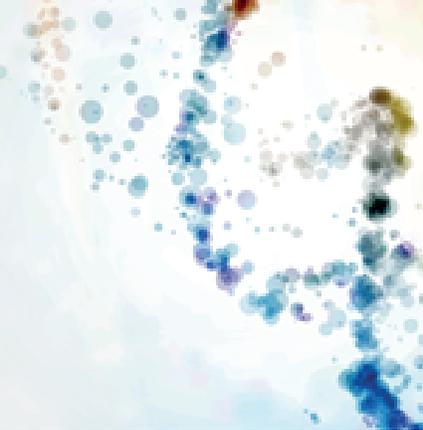
Pueden solicitarla mediante el correo electrónico: colmqc@racsa.co.cr o a través del fax 2225-5138.

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.





Counter 19 por consumo

Counter 19, una forma sencilla de trabajar la Hematología, ahora por consumo mínimo de reactivos mensual.



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
wiener.lab@racsa.co.cr