



REVISTA

DEL COLEGIO DE MICROBIÓLOGOS Y QUÍMICOS CLÍNICOS DE COSTA RICA

Volumen 21, N°2 • Abril - junio, 2015 • ISSN: 2215-3713

Abril-junio

CONTENIDO

- Falsos positivos en pruebas de detección de drogas de abuso en orina asociados a consumo de medicamentos
 - Revisión general sobre los microarreglos y sus aplicaciones
 - Estudio de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche humana colectada en el Banco de Leche Humana del Hospital Carlos Luis Valverde Vega
 - Troponina: biomarcador de elección para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio
 - Aislamiento de *Sphingomonas paucimobilis* de herida quirúrgica contaminada
- Carta al editor**
- Nuevo algoritmo diagnóstico para el virus de la inmunodeficiencia humana, según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades



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 2015-2016:

Presidenta: Dra. Lidiette Salazar Palma
Secretaria: Dra. Ana Cristina Monge Montero
Tesorera: Dra. Carolina Loría Acosta
Fiscal: Dr. Dennis León Alán
Vocal 1: Dra. Joselyn Quirós Montero
Vocal 2: Dra. Laura Hernández Alvarado
Vocal 3: Dr. Rolando Leiva Escalante

COMITÉ EDITORIAL:

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

Revisión de texto en español:

Dr. Carlos Cerdas Chinchilla

Revisión de texto en inglés:

Rodolfo Gutiérrez Fernández

Diagramador:

Jorge Vargas González

ISSN: 2215-3713

Derechos reservados ©2015

JVDISENO

jvdisen01958@gmail.com/ 8387+4343



La Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica, publicación oficial de este colegio profesional, se publica trimestralmente en español. Constituye un medio de divulgación del quehacer científico de investigadores nacionales e internacionales.

Cumple con un propósito de responsabilidad social con nuestros colegiados y con los gremios profesionales afines.

Esta revista es de acceso libre y sin costo de suscripción.

ÍNDICE

Nota del editor

33 **Dr. Gabriel Muñoz Cernadas**, Editor jefe.

Artículos

34 Falsos positivos en pruebas de detección de drogas de abuso en orina asociados a consumo de medicamentos. **Luis David Garro-Zamora**. Departamento de Farmacia, Hospital Clínica Bíblica. **Esteban Zavaleta-Monestel**. Jefatura de Farmacia, Hospital Clínica Bíblica.

44 Revisión general sobre los microarreglos y sus aplicaciones. **Danny Alvarado-Romero**. Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños, CCSS.

52 Estudio de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche humana colectada en el Banco de Leche Humana del Hospital Carlos Luis Valverde Vega. **Yahaira Ramos-Chavarría**. Laboratorio Clínico y Banco de Leche Humana. Hospital Carlos Luis Valverde Vega, CCSS.

58 Troponina: biomarcador de elección para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio. **Carlos Carvajal-Carvajal**. Laboratorio Clínico, Hospital de Guápiles, CCSS.

63 Aislamiento de *Sphingomonas paucimobilis* de herida quirúrgica contaminada. **Jorge Mauricio Montero-García**. Laboratorio Clínico, Hospital de Guápiles, CCSS.

Carta al editor

65 Nuevo algoritmo diagnóstico para el virus de la inmunodeficiencia humana, según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. **Mauricio Montero-García**. Laboratorio Clínico, Hospital Los Chiles, CCSS.

- Instrucciones para los autores
- Próximos eventos

Nota del editor

Recientemente hemos estado pendientes de eventos deportivos que han capturado nuestra atención por el papel protagónico que atletas costarricenses han tomado en esas competiciones. Afortunadamente, no se han presentado problemas por el uso de sustancias ilícitas en esas actividades deportivas. El uso de algunos recursos para mejorar el rendimiento de los competidores se remonta al origen de las olimpiadas en la antigua Grecia, pues los triunfadores obtenían importantes ganancias y procuraban obtener ventajas sobre sus oponentes en la competencia. En 1928, la Federación Internacional de Atletismo fue el primer organismo que prohibió el uso de sustancias dopantes. La mayoría de las federaciones deportivas internacionales introdujeron los controles de dopaje en la década de 1970.

Los ensayos para la determinación de drogas de abuso en orina son un examen frecuente en los laboratorios; no solo están orientados a la detección del dopaje por parte de los deportistas, sino también para identificar el uso de esas sustancias en personas que dependen de ellas y proporcionar un reporte adecuado, con el fin de procurar el tratamiento correcto en los casos que lo ameriten. El primer artículo de este número, de los doctores Garro y Zavaleta, nos presenta una amplia revisión sobre los fármacos comúnmente relacionados a falsos positivos cuando se emplean métodos de inmunoensayos y la necesidad de la confirmación de los resultados obtenidos por los métodos de referencia.

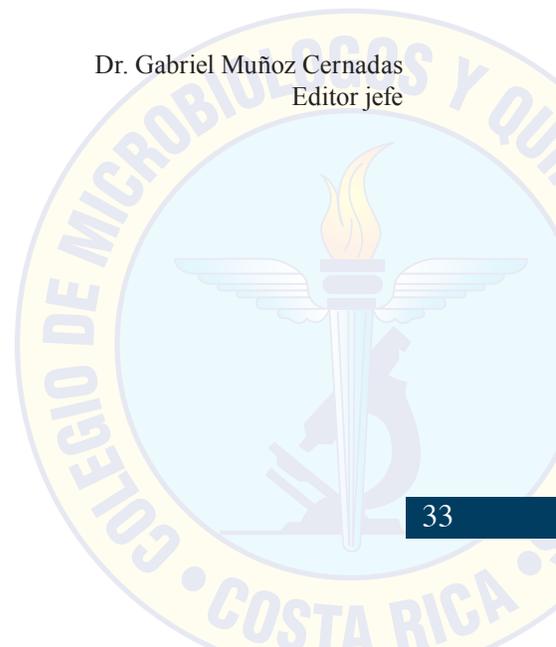
Las pruebas moleculares cada vez ganan mayor importancia como herramienta diagnóstica en el laboratorio. El segundo artículo, sobre los microarreglos, cumple con su objetivo de brindar una definición general de estos, así como explicar ciertos aspectos de su fabricación y describir la metodología que emplea; además, muestra sus aplicaciones clínicas, como son la hibridación genómica comparada y los microarreglos de polimorfismos de un único nucleótido.

Presentamos un nuevo artículo sobre la importancia de los bancos de leche humana, los diferentes procesos que se llevan a cabo en ellos, así como la necesidad de implementar los controles adecuados para un desempeño eficaz de estos establecimientos. Este artículo nos presenta la experiencia obtenida en el único servicio de este tipo que se tiene en Costa Rica, ubicado en el Hospital Dr. Carlos Luis Valverde Vega en San Ramón, provincia de Alajuela.

La enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte en Costa Rica; el infarto de miocardio es una de las manifestaciones más importantes de esta patología. La determinación de troponina es una de las herramientas más útiles para diagnosticar este cuadro. Desde que se presentó al mercado esta prueba, hace cerca de 20 años, se han desarrollado diferentes métodos para su determinación; los estudios realizados han puesto en evidencia la importancia de contar con los métodos adecuados y un buen conocimiento del significado de este biomarcador para una correcta interpretación del resultado obtenido.

Por último, se presenta un cuadro de infección de herida quirúrgica producido por *Shyngomonas paucimobilis*. Si bien el aislamiento de este organismo no es inusual, sí se debe tener en cuenta como agente de infección nosocomial y debe ser tomado en cuenta por los equipos de control de infecciones intrahospitalarias, en los cuales la participación de los microbiólogos es fundamental. 

Dr. Gabriel Muñoz Cernadas
Editor jefe



Falsos positivos en pruebas de detección de drogas de abuso en orina asociados a consumo de medicamentos

Luis David Garro-Zamora^I, Esteban Zavaleta-Monestel^{II}

Resumen:

Las pruebas de detección de drogas de abuso en orina (*Urine Drug Screen*, UDS) son un método rápido, de bajo costo, fácil aplicación y alta sensibilidad que se realiza rutinariamente en diversas instituciones de control de adicciones, deportes de alto rendimiento, centros de salud y organizaciones laborales. Sin embargo, con el pasar de los años se han descrito falsos positivos de estas pruebas asociados a consumo de medicamentos de prescripción, venta libre y productos alimenticios. Desafortunadamente, estos incidentes comprometen la confiabilidad de las personas a las que se les realiza la prueba y del profesional que la aplica, lo cual podría desencadenar consecuencias en el ámbito laboral o personal, e inclusive con respecto al tratamiento médico del control de algunas adicciones. Por ello, es de vital importancia analizar y recopilar los fármacos comúnmente relacionados a falsos positivos en pruebas UDS y de igual manera algunos datos que se conocen al respecto. Esta revisión está dirigida a profesionales en salud relacionados con estas pruebas: médicos, microbiólogos y farmacéuticos, con el fin de tomar en cuenta cuáles medicamentos pueden potencialmente causar un falso positivo. En resumen, la información analizada coincide en la importancia de reconocer los inmunoensayos en orina como pruebas no confirmatorias de detección de drogas. Metodología: Análisis sistemático en las bases de datos Pubmed, Access Pharmacy, Proquest y EBSCO. Se compilaron artículos con las palabras claves *False Positives Drugs Urine*, *Opioids*, *cannabinoids*, *amphetamines*, *LSD*, tomando en cuenta publicaciones del año 2000 a la actualidad.

Palabras clave: Drogas de abuso, falsos positivos, pruebas de orina, dopaje.

Abstract:

Urine drug screens (UDS) for drug abuse are quick, inexpensive, easily applied and highly sensitive methods that are routinely performed in several healthcare centers, high performance sports, labor organizations and other institutions as a way for controlling addiction. However, over time, false positives have been reported associated mainly with the use of prescription drugs, over the counter drugs (OTC's) and even food products. This unfortunately has compromised the reliability of the people who have been tested, and the staff who performed the test; as well as compromising the progress of medical treatment in addiction control. Therefore, it is highly important to review and collect all available information regarding the drugs commonly associated to false positive results in urine drug screens (UDS). This review is aimed to the health professionals whose daily work is related to these tests: physicians, microbiologists and pharmacists; in order to provide current data and show which medications can potentially cause a false positive. The collected information agrees in recognizing the importance of urine immunoassays as non-confirmatory drug screening tests. Methods: Systematic analysis in data bases such as Pubmed, Access Pharmacy, Proquest, EBSCO. The articles were selected according to the following key words: "False positives drugs urine", "opioids", "cannabinoids", "amphetamines", "LSD", taking into account publications from the year 2000 to the present.

Key words: Drug of abuse, false positive, urine tests, doping.

Artículo recibido el 21/02/2015 / Aceptado para su publicación el 25/05/2015.

I. Departamento de Farmacia, Hospital Clínica Bíblica.

II. Jefatura de Farmacia, Hospital Clínica Bíblica.

Correspondencia: jldavidgz@gmail.com

Antecedentes

Las pruebas UDS, también conocidas como inmunoensayos para la detección de drogas de abuso en orina (*Urine Drug Screen*, UDS), representan una controversia entre los profesionales de salud tratantes, principalmente debido a que no se ha evaluado la magnitud e importancia de este problema ⁽¹⁻⁴⁾. Una calificación del poder de la evidencia relacionada con el tema lo catalogó en categoría C, por tratarse en su mayoría de pequeños estudios controlados y reportes de caso ⁽²⁾.

Específicamente, se vuelve un tema de gran importancia en panoramas relacionados con individuos que requieren un control estricto en programas de deshabituación de drogas de abuso, o como requisitos de algún empleo. También, puede afectar la confianza de los pacientes hacia los profesionales de salud que prescribieron el medicamento que arrojó un falso positivo ^(1,2,4).

Los falsos negativos constituyen en sí un énfasis muy interesante que no se tomó en cuenta para la presente revisión por aspectos de extensión, sin embargo presentan una oportunidad de investigación futura.

Diversas causas relacionadas con falsos positivos han sido publicadas en la literatura científica o reportados de manera anecdótica. Las causas más comunes pueden agruparse en cuatro categorías ⁽⁵⁾:

1. Uso de medicamentos de prescripción y OTC (*Over the counter* o venta libre).
2. Metabolitos de medicamentos que presentan reacciones cruzadas con la droga examinada.
3. Consumo de productos alimenticios que poseen en sus componentes la droga examinada.
4. Sobredosis de medicamentos que sobrepasan los límites de detección de las drogas de abuso.

A pesar de la alta sensibilidad de los inmunoensayos a la presencia de drogas y sus respectivos metabolitos, la especificidad y precisión de sus resultados dependen del método utilizado así como de la sustancia analizada. A causa de ello, esta limitación en ocasiones resulta en falsos positivos por reacciones cruzadas entre los analitos y moléculas que no son las examinadas ^(3,4).

Para disminuir la posibilidad de incurrir en conclusiones erróneas, los resultados positivos observados en un inmunoensayo deben ser confirmados haciendo uso de una prueba más precisa como la espectrometría de gases acoplada a un detector de masas (GC-MS), lo cual es el “*gold standard*” para este nivel de análisis ^(3,4).

Los límites de detección, establecidos por el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (DHHS), reducen la posibilidad de obtener falsos positivos. Ejemplo de ello fue en 1998, cuando se aumentó el corte de detección de opioides de 300 a 3 000 ng/ml, para evitar falsos positivos por la ingesta de semilla de amapola. No obstante, este tipo de decisiones pueden causar falsos negativos, de ahí que muchos laboratorios siguen manejando cortes más estrictos ^(1,3).

El GC-MS es un método de alta sensibilidad, aunque también ha reportado problemas o errores en detección de drogas de abuso. Se conocen casos relacionados a la detección del *d*-isómero y *l*-isómero de anfetaminas (relacionados al uso de selegilina, un inhibidor de la monoamino oxidasa) que no pueden identificarse por medio de inmunoensayo o GC-MS ^(1,3,5).

Varios medicamentos de prescripción, así como OTC, han reportado falsos positivos en inmunoensayos (ver tabla 1). Cabe destacar que las pruebas de anfetaminas y opioides son las de mayor reporte de falsos positivos, caso contrario a las pruebas de cannabinoides y cocaína, donde dichos reportes son escasos ⁽⁵⁾.

Tabla 1. Medicamentos relacionados con falsos positivos en pruebas de laboratorio de detección de drogas de abuso ⁽¹⁻⁸⁾

Droga	Medicamentos que causan falsos positivos	
Anfetaminas/metanfetaminas	Amantadina Benzfetamina Bromfeniramina Bupropion Clorpromazina Desimipramina Desoxiefedrina Dextroanfetamina Efedrina Felinefrina Fluoxetina Isomepteno Isoxsuprina Labetalol Fentermina	Fenilefrina Fenilpropanolamina Metilfenidato Prometazina Propilhexedrina (inhalador nasal) Pseudoefedrina Ranitidina Seleginina Tioridazina Trazodona Trimetobenzamida Trimipramina Vicks inhaler®
Barbitúricos	Ibuprofeno Naproxeno	
Benzodiazepinas	Oxaprozín Sertralina	Efavirenz
Cannabinoides	Dronabinol Efavirenz Ibuprofeno Ketoprofeno Naproxeno	Pantoprazol Piroxicam Prometazina Sulindaco Tolmetina
Cocaína	Amoxicilina Agua tónica (agua quinada)	Té de hoja de coca
Metadona	Clorpromazina Clomipramina Difenhidramina Doxilamina	Ibuprofeno Quetiapina Tioridazina Verapamilo
Opiáceos (morfina, codeína)	Dextrometorfanó Difenhidramina Fluoroquinolonas (levofloxacina, Ofloxacina)	Hojas de amapola Rifampicina Quinina
Fenciclidina	Dextroanfetamina Dextrometorfanó Difenhidramina Doxilamina Ibuprofeno Imipramina Ketamina	Lamotrigina Meperidina Sertralina Tioridazina Tramadol Venlafaxina
LSD	Amitriptilina Diltiazem Diciclomina Ergotamina Haloperidol	Prometazina Sertralina Sumatriptán

Anfetaminas y metanfetaminas

Las anfetaminas y metanfetaminas se presentan como dos enantiómeros designados como *d* o *l*. El *d*-isómero posee mayor actividad estimulante sobre el sistema nervioso central (SNC) que el *l*-isómero, por tanto, se relaciona con su utilización como droga de abuso. La acción del *l*-isómero es más específico en actividad

vasoconstrictora periférica, por ello está disponible en el inhalador encontrado en la clasificación OTC como Vicks Vapoinhaler® (no registrado en Costa Rica); sin embargo, no está exento de presentar falso positivo (especialmente con sobredosis) incluso en pruebas de laboratorio realizadas utilizando un GC-

MS, por ello se recomienda utilizar pruebas específicas enantioméricas ^(3,5,6,7).

En moléculas como la efedrina, pseudoefedrina, clorpromazina y prometazina, los falsos positivos son esperables debido a la similitud estructural con las anfetaminas, por lo tanto, los autores recomiendan realizar la prueba confirmatoria de GC-MS ^(1,6).

Ahora bien, reacciones cruzadas fueron reportadas con moléculas no similares como la ranitidina. La ranitidina (un antagonista de H₂) es un medicamento comúnmente prescrito y se encuentra en presentaciones de 150-300 mg, dosificaciones que han sido relacionadas a falsos positivos ⁽¹⁾; un estudio realizado en 23 pacientes reveló que es necesaria una concentración en orina mayor a 91 mg/l para obtener un falso positivo para metanfetaminas ^(1,8,12).

Existe un reporte de caso de falso positivo de anfetaminas por el uso de selegilina, atribuido al *l*-isómero. Los autores recomendaron identificar las concentraciones de isómeros (en caso de existir un falso positivo por orina) para descartar el consumo de anfetaminas, ya que en la prueba confirmatoria de GC-MS se pueden obtener concentraciones mayores a 500 µg/ml de este fármaco ^(1,3,6,12).

Casos de drogas antidepresivas como atomoxetina (asociado a sobredosis) y bupropión (por uso crónico) han tenido reportes de falsos positivos de anfetaminas, ambos descartados por GC-MS, sin embargo, se recomienda precaución con su uso ⁽¹⁰⁾. Otro reporte reveló tres pacientes con falsos positivos por anfetaminas, asociados al uso del antihipertensivo labetalol. Estos resultados no fueron confirmados por GC-MS, por lo cual se clasificó como reactividad cruzada del metabolito 3-amino-fenilbutano-labetalol con los inmunoensayos realizados ⁽⁶⁾.

Por su fácil acceso, los medicamentos antigripales representan un riesgo creciente de aparición de falsos positivos por anfetaminas. Lo anterior se debe a la presencia de moléculas como bromfeniramina, clorfeniramina, efedrina, guaifenesina, fenilefrina, feniramina en sus formulaciones, que pueden presentar reactividad cruzada con los kits comerciales de detección de drogas ^(1,5,11).

La metformina (un agente antidiabético oral) ha reportado también falso positivo por anfetaminas. Esto sucedió con un paciente al que se le realizó una prueba de orina para renovación de licencia; este puso un recurso de apelación judicial ya que el único fármaco que consumía

regularmente era metformina; las pruebas confirmatorias de GC-MS fueron negativas ⁽¹³⁾.

Finalmente, se debe recalcar el cuidado con el consumo de suplementos alimenticios, ya que ocasionalmente no reportan componentes que causan falsos positivos (especialmente por anfetaminas y derivados) ⁽¹⁵⁾. La advertencia es asociada principalmente a la dimetilamina (DMAA), también conocida como metilhexamina o extracto de geranio. Este producto, utilizado para perder peso, ha sido prohibido en países como Australia y recientemente en EE. UU. por la FDA (Food and Drug Administration) ^(14,15).

Cannabinoides

La marihuana es una de las drogas ilícitas de mayor consumo a nivel global. La mayoría de inmunoensayos disponibles detectan la presencia del metabolito urinario del Δ9-tetrahidrocannabinol (THC), conocido como 11-nor-Δ9-tetrahidrocannabinol-9-ácido carboxílico ^(1,3,4,6). Falsos positivos de marihuana son asociados a uso de medicamentos como el Marinol®, secundario a inhalación pasiva de humo de marihuana, uso de inhibidores de bomba de protones y la ingestión de productos derivados de cáñamo (*Cannabis sativa*) ^(6,12).

El principio activo del Marinol® es un análogo sintético del THC llamado dronabinol, utilizado en algunos países para el tratamiento de náusea y vómito asociados a quimioterapia, estimulación del apetito en pacientes con sida y manejo del glaucoma. Este medicamento es metabolizado en el hígado a THC y en inmunoensayos UDS puede causar falsos positivos ^(1,6).

El fármaco antirretroviral efavirenz interfiere en los inmunoensayos por su metabolito efavirenz 8-glucuronido, el cual requiere de confirmación por GC-MS ⁽⁵⁾. Se han reportado falsos positivos asociados al uso de inhibidores de bomba de protones (Pantoprazol) ⁽⁵⁾. También, niveles detectables de cannabinoides han sido asociados con la ingesta previa de alimentos que contienen cáñamo, sin embargo, estos niveles no fueron confirmados por GC-MS, por lo cual son descartables ^(1,3,4).

Se ha propuesto a la tetrahidrocannabinovarina (un compuesto natural de todos los productos de cannabis) como indicador exclusivo de consumo de marihuana, ya que no se metaboliza a partir de cannabinoides; por tanto, su presencia puede indicar el consumo de marihuana, sin la excusa del uso de un producto medicinal ^(1,6).

Tabla 2. Falsos positivos en inmunoensayos con anfetaminas

Reacción cruzada de drogas	Plataforma de inmunoensayo (más corte de detección o <i>cutoff</i>)	Nombre del inmunoensayo	Niveles donde se presentó el falso positivo	Nivel de evidencia
Bupropión	Siemens Dimension®	SYVA EMIT II Plus®	Ocurrió	Revisión retrospectiva
Clorpromazina	Roche Hitachi 911® (1.0 µg/ml <i>cutoff</i>)	SYVA EMIT-MAM®	Ocurrió	Revisión retrospectiva
DMAA	Roche Modular P® (300 ng/ml <i>cutoff</i>)	Roche Kinetic interaction of microparticles in a solution (KIMS®)	7.5 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
		SYVA EMIT II Plus®	3.1 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
		Roche Kinetic interaction of microparticles in a solution (KIMS®) and SYVA EMIT II®	6.9 µg/ml	Dosis terapéutica
Labetalol	No mencionado	No mencionado	No reportado	Reporte de caso
Metformina	-	Biosite Triage®	No reportado	Reporte de caso
Ofloxacina	TdxFlx® (300ng/ml)	AM/MA II®	No reportado	Dosis terapéutica
Prometazina	Roche Hitachi 911® (1.0µg/ml <i>cutoff</i>)	SYVA EMIT-MAM®	No reportado	Revisión retrospectiva
Trazodona	Olympus UA 400®	SYVA Ecstasy EMIT II®	3 µg/ml (<i>m- CPP</i>)	Rechazar según estándares de DFU*
	Roche Cobas c501®, <i>cutoff</i> 300µg/l	Anfetaminas II®	6.7 µg/ml (<i>m- CPP</i>)	Matriz nativa

Nota: DFU (*Drug-free urine* ‘orina libre de droga’)

Nota: Tomado y modificado de: Saitman A, Park H, Fitzgerald R. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. J Anal Toxicol. 2014. 38:387-396

Tabla 3. Falsos positivos en inmunoensayos con cannabinoides

Reacción cruzada de drogas	Plataforma de inmunoensayo (con corte de detección [<i>cutoff</i>])	Fabricante del inmunoensayo	Niveles donde el falso positivo se presentó	Nivel de evidencia
Efavirenz	Cedia® Dau Multi-Level THC, Triage® TOX Drug Screen and Cannabinoids (THCA/CTHC) Direct ELISA Kit, corte 50 µg/l	Microgenics, BioSite y Immunalysis	No reportado	Reporte de caso
	Rapid response drug-of-abuse tests strips, <i>cutoff</i> 50 ng/ml	BTNX		
Ibuprofeno	EMIT® d.a.u., <i>cutoff</i> 20 µg/l	Syva	No reportado	Reporte de caso
Naproxeno	EMIT® d.a.u., <i>cutoff</i> 20 µg/l	Syva	No reportado	Reporte de caso
Ácido Niflúmico	Kinetic interaction of microparticles in a solution (KIMS®), <i>cutoff</i> 50 ng/ml	Roche	2.5 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU

Nota: DFU (*Drug-free urine* ‘orina libre de droga’)

Nota: Tomado y modificado de: Saitman A, Park H, Fitzgerald R. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. J Anal Toxicol. 2014. 38:387-396

Opiáceos

Se pueden obtener falsos positivos por morfina y codeína debido al consumo de alimentos que contienen hojas de amapola, y por la presencia de hidrocodona o hidromorfona que no puedan ser distinguidos como metabolitos secundarios de codeína y morfina, respectivamente. Ante esto, las autoridades estadounidenses recomiendan realizar pruebas para cada fármaco ^(5,6,16).

El uso de quinolonas ha sido asociado a falsos positivos por opiáceos ⁽¹⁷⁾. En un estudio, se evaluaron las presentaciones disponibles en el mercado de este antimicrobiano, en seis pacientes; se utilizó morfina a diferentes concentraciones como control para determinar a cuál concentración mínima de opioides daba como positivo la quinolona. Se administró una dosis única de levofloxacina u ofloxacina y se recolectaron muestras de orinas durante las próximas 48 horas. Se obtuvo que al menos uno de los ensayos, a diferentes concentraciones de los seis pacientes, resultaba positivo a morfina ⁽¹⁾. Se necesitaron concentraciones de 200 mg/l de ofloxacina en orina para exceder el límite de detección de morfina (300 µg/l). Estos resultados no se reprodujeron con ciprofloxacina o norfloxacina. Otro antimicrobiano

asociado es la rifampicina; con esta se han reportado tres casos de falso positivo por opiáceos, los cuales se descartaron con la prueba GC-MS ⁽⁴⁾.

Metadona

La difenhidramina y doxilamina son medicamentos altamente utilizados para tratar el insomnio leve. A dosis diarias de 100-200 mg de difenhidramina, se obtuvieron falsos positivos en tre pacientes en UDS (concentraciones de 10 mg/l). También, un caso de intoxicación por doxilamina resultó en falsos positivos de UDS de opioides (800 mg/l de orina) y metadona (50 mg/l en prueba de orina); asimismo, un caso de quetiapina fue reportado en tres pacientes que lo utilizaban como monoterapia ⁽¹⁾

Benzodiazepinas

Este grupo de fármacos son comúnmente estudiados en UDS. Controversialmente, los inmunoensayos con benzodiazepinas tienden también a arrojar falsos negativos ⁽⁶⁾. Un estudio reportó falsos positivos por benzodiazepinas en tres adolescentes que consumían sertralina; dicho análisis asoció dosis superiores de 150 mg a estos resultados ⁽¹⁾.

Tabla 4. Falsos positivos en inmunoensayos con opiáceos y metadona

Reacción cruzada de drogas	Plataforma de inmunoensayo (+ <i>cutoff</i>)	Fabricante del inmunoensayo	Niveles donde se presentó el falso positivo.	Nivel de evidencia
Aminosulpirida y sulpirida	CEDIA buprenor assay®, <i>cutoff</i> 5 ng/ml	Thermo Fisher Scientific	130 mg/l para aminosulpirida y 250 mg/l para sulpirida	Rechazar según estándares de DFU
Codeína, dihidrocodeína, morfina, metadona y morfina-3-glucurónido	CEDIA buprenor assay®, <i>cutoff</i> 5 ng/ml	Microgenics	30 mg/l (codeína), 60 mg/l (dihidrocodeína), 120 mg/l (morfina), 320 mg/l (metadona) y 520 mg/l (morfina-3-glucuronido)	Rechazar según estándares de DFU
Creatinina	EMIT® d.a.u. methadone, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Syva	No reportado	Reporte de caso
Dihidrocodeína	CEDIA buprenor assay®, <i>cutoff</i> 5 ng/ml	Microgenics	No reportado	Reporte de caso
Difenhidramina	Lateral-flow immunoassay for methadone, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	One Step Multi-Drug Screen (ACON Laboratories)	100 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
	EMIT II® propoxyphene, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Syva	200 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
Levofloxacina, Ofloxacina	AxSYM fluorescence polarization immunoassay morphine, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Abbott	1 700 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU

Levofloxacin, ofloxacin, pefloxacin, enoxacin	CEDIA morphine®, <i>cutoff</i> 300ng/ml	Microgenics	60-1 700 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
Levofloxacin, ofloxacin, pefloxacin, enoxacin, gatifloxacin	EMIT II® morphine, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Syva	140-600 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
Levofloxacin, ofloxacin, pefloxacin, lomefloxacin, moxifloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin	Abuscreen OnLine morphine, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Roche	200-1 700 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
Morfina	CEDIA buprenorphine assay®, <i>cutoff</i> 10 ng/ml	Microgenics	No reportado	Reporte de caso
Naloxona	CEDIA opiate®, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Microgenics	6 100 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
Ofloxacin	Fluorescence immunoassay for opiates	Triage TM and Multi-5M	No reportado	Reporte de caso
	EMIT II® opiates, <i>cutoff</i> 300 µg/l	Syva	200 mg/l	
Pentazocina	Cedia heroin metabolite (6-AM) assay <i>cutoff</i> 10ng/ml	Microgenics	No reportado	Reporte de caso
Drogas Psicotrópicas	Kinetic interaction of microparticles in a solution (KIMS®) methadone, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Roche Integra 800	8 mg/l ciamemazina, 57 mg/l alimemazina, 5 mg/l levomepromazina, 20 mg/l clorpromazina, 100 mg/l clomipramina y 100 mg/l tioridazina	Rechazar según estándares de DFU
Quetiapina	Kinetic interaction of microparticles in solution (KIMS®) methadone <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Roche COBAS Integra Methadone II test kit	No reportado	Reporte de caso
Rifampicina	KIMS® opiates (kinetic interaction of microparticles in solution)	Cobas Integra	156-5 000 µg/l	Rechazar según estándares de DFU
Tapentadol	DRI methadone enzyme immunoassay <i>cutoff</i> 130 ng/ml	Microgenics	6 500 ng/ml	Rechazar según estándares de DFU
Tramadol	CEDIA buprenorphine assay® <i>cutoff</i> of 5 ng/ml	Microgenics	100 mg/l	Solución estándar de tramadol
	Lateral-flow immunochrom buprenorphine assay, <i>cutoff</i> 5 ng/ml			
	Lateral-flow immunochromatographic, buprenorphine assay, <i>cutoff</i> 5 ng/ml	Rapid One Buprenorphine Test Cards (Am. Bio Medica)	50 mg/l	Solución estándar de tramadol
		QuikStrip OneStep Buprenorphine Test strips (CLIAwaived)		Reporte de caso
			No reportado	
Verapamilo	Methadone, <i>cutoff</i> 300 ng/ml	Diagnostic Regents, Inc. (DRI)	20 mg/l	Rechazar según estandares de DFU

Nota: DFU (*Drug-free urine* ‘orina libre de droga’)

Nota: Tomado y modificado de: Saitman A, Park H, Fitzgerald R. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. *J Anal Toxicol.* 2014. 38:387-396

Caso interesante es el de efavirenz, el cual ha mostrado reactividad cruzada con algunos tipos de kits. Los autores realizaron un estudio ciego en el que la mitad de los pacientes (n = 50) estaban dosificados terapéuticamente con efavirenz y la otra mitad (n = 50) no. Al utilizar el kit Biosite Triage, 46 de los 50 pacientes prescritos con efavirenz resultaron positivos, mientras que 47 de los 50 pacientes que no utilizaban el fármaco resultaron negativos. Los resultados positivos fueron reevaluados con GC-MS y arrojaron, en ambos grupos, resultados negativos, por lo cual, los autores concluyeron que los resultados positivos estaban asociados a una reactividad cruzada con el metabolito 8-OH-efavirenz ⁽⁴⁾.

Fenciclidina (PCP)

Los autores recomiendan utilizar técnicas de GC-MS para distinguir entre el dextrometorfano y la fenciclidina, ya que se ha reportado un falso positivo a concentraciones en orina de 5 000 µg/l, así como un caso de ingesta previa de 500 mg de dextrometorfano que resultó positivo en una prueba de orina, cuyo análisis

se realizó mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) ⁽¹⁸⁾. También, el ibuprofeno ha reportado casos de falso positivo en población pediátrica ⁽¹⁾.

En relación con la lamotrigina, se han reportado dos casos asociados con falsos positivos por fenciclidina ⁽¹⁹⁾. Además, en la literatura se reportan seis casos de falsos positivos asociados al uso de venlafaxina y dextrometorfano, un caso relacionado con cloroquina y otro *post mortem* asociado a sobredosis de tramadol ^(3, 6,8).

Dietilamida del ácido lisérgico (LSD)

Diversos UDS han demostrado reacciones cruzadas con fármacos y uno de los más frecuentes en este tipo de reacciones es el ambroxol ⁽²⁰⁾. Este mucolítico, de gran volumen de prescripción, causó falsos positivos en doce pacientes. Otros fármacos relacionados son la sertralina, el bupropión y el fentanilo (a concentraciones mayores de 40 µg/l) ⁽²¹⁾.

Tabla 5. Falsos positivos en inmunoensayos con benzodiazepinas

Reacción cruzada de fármaco	Plataforma de inmunoensayo (+ corte de detección)	Fabricante del inmunoensayo	Niveles donde se presentó el falso positivo	Nivel de evidencia
Efavirenz	--	Biosite Triage 8	No reportado	Revisión retrospectiva
Sertralina	Abbot Architect and Abbot Aeroset	No mencionado	No reportado	Revisión retrospectiva

Nota: DFU (*Drug-free urine* 'orina libre de droga')

Nota: Tomado y modificado de: Saitman A, Park H, Fitzgerald R. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. *J Anal Toxicol.* 2014. 38:387-396

Tabla 6. Falsos positivos en inmunoensayos con drogas misceláneas (PCP, LSD y barbitúricos)

Medicamento	Plataforma de inmunoensayo (más corte o <i>cutoff</i>)	Fabricante del inmunoensayo	Niveles donde se presentó el falso positivo	Nivel de evidencia
Reacciones cruzadas de para PCP				
Lamotrigina	--	Bio-Rad Tox/See®	7.6 µg/ml (sérico)	Reporte de caso
MDPV	Beckman Coulter DxC 800®, <i>cutoff</i> 25 ng/ml	Synchron®	3.1 µg/ml	Rechazar según estándares de DFU

sigue...

Tramadol	No definido	Syva EMIT II Plus®	5.4 µg/ml	Reporte de caso
	Siemens ADVIA 1800®	DRI PCP	500 µg/ml a corte más bajo 25 ng/ml	Rechazar según estándares de DFU
	No definido	Microgenics®, <i>cutoff</i> 25 ng/ml		
		Syva EMIT II®	No reportado	Reporte de caso
	Siemens Dimension®	Syva EMIT II®	No reportado	Revisión retrospectiva
Venlafaxina	--	Syva RapidTest d.a.u.®, <i>cutoff</i> 25 ng/ml	200µg/ml	Rechazar según estándares de DFU
		FPIA for PCP		
		Instant-view		Reporte de caso
	Abbot AxSYM®	Multi- Drug Screen®	Ocurrió corte en 25ng/ml	
	--		No reportado	Reporte de caso
Reacciones cruzadas para LSD				
Ambroxol	CEDIA DAU LSD assay cutoff 0.5 ng/ml	Hitachi 917-analyzer	3 mg/l	Rechazar según estándares de DFU
Amitriptilina, benzfetamina, bupropion, buspirona, cefradina, clorpromazina, desipramina, diltiazem, doxepin, fentanil, fluoxetina, haloperidol, imipramina, labetalol, metoclopramida, proclorperazina, risperidona, sertralina, tiordiazina, trazodona y verapamilo	Emit II LSD® assay from Behring diagnostics <i>cutoff</i> 0.5 ng/ml	Syva-30R automated assay	Variable (0.1 ≤ 1 000 mg/l)	Rechazar según estándares de DFU
Ergonovina, lisergol, maleato de bromfeniramina, imipramina HCL y metilfenidato HCL	EMIT II LSD® <i>cutoff</i> 500 pg/ml	Dade Behring	4 000 ng/ml (ergonovina), 25 000 ng/ml (lisergol y maleato de bromfeniramina), 50 000 ng/ml (imipramina HCL) y 50 000 ng/ml (metilfenidato HCL)	Rechazar según estándares de DFU
Fentanilo	CEDIA LSD® assay and Emit II LSD® assay	Microgenics and SYVA	40 µg/l	Rechazar según estándares de DFU
Sertralina	CEDIA®	Microgenics	1.5 µg/l	Rechazar según estándares de DFU
Reacciones cruzadas para barbitúricos				
Ibuprofeno	FPIA (<i>cutoff</i> 500 µg/l)	Abbott TDx	No reportado	Reporte de caso
Naproxeno	FPIA (<i>cutoff</i> 500 µg/l)	Abbott TDx	No reportado	Reporte de caso

Nota: DFU (*Drug-free urine* 'orina libre de droga')

Nota: Tomado y modificado de: Saitman A, Park H, Fitzgerald R. False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. J Anal Toxicol. 2014. 38:387-396

Cocaína

Actualmente, no existen medicamentos de prescripción que contengan cocaína. Sin embargo, falsos positivos asociados a la presencia del metabolito de la cocaína, conocido como benzoilecgonina, han sido reportados por la exposición de cocaína a nariz y oído, así como a la ingesta de té de coca⁽⁵⁾.

Derivados de ácido propiónico

Rollings *et al.* estudiaron el uso agudo y crónico de ibuprofeno, naproxeno y fenoprofeno en busca de falsos positivos de cannabinoides, barbitúricos y benzodiazepinas en las muestras de orina de 120 voluntarios. El estudio concluyó que el riesgo de falsos positivos asociados a estos medicamentos es bajo, sin embargo, existen casos asociados a cannabinoides y barbitúricos por lo cual se sugiere precaución en el uso. Asimismo, los investigadores no lograron establecer una relación entre estos resultados y las concentraciones de los fármacos en orina, ni asociación con la estructura del medicamento. Se teorizó, por tanto, una interferencia “reacción-enzima” que causa una afectación en la lectura de absorbancia. Como conclusión, opinaron que, con el uso de ibuprofeno (agudo y crónico) y naproxeno, a pesar de no estar regularmente asociado a falsos positivos, debe siempre realizarse una prueba de confirmación por GC-MS⁽¹⁾.

Conclusión

Los inmunoensayos UDS son el método más empleado para obtener resultados de uso de drogas de abuso. En esta revisión se analizaron los fármacos más comúnmente asociados a falsos positivos en estas pruebas así como las principales causas, tales como presencia de metabolitos activos, reactividad cruzada y semejanza estructural.

Se asocian a falsos positivos una gran variedad de medicamentos altamente utilizados como antiinflamatorios, moduladores del ánimo, antihistamínicos y antibióticos. Por lo tanto, es de gran importancia considerar el uso de medicamentos previo a este tipo de pruebas y valorar la recomendación de pruebas confirmatorias (GC-MS) para descartar falsos positivos; lo anterior con el fin de evitar cualquier inconveniente a los pacientes y, asimismo, al personal de salud tratante.

Referencias

1. Brahm, NC., Yeager, LL., Fox, MD., Farmer, KC., Palmer, TA. (2010). Commonly prescribed medications and potential false-positive urine drug screens. *Am J Health-Syst Pharm*, 67(16), 1344-1350.
2. Williams, K. (2007). What drugs are likely to interfere with urine drug screens? Obtenida el 1/12/2014, de <http://dig.pharm.uic.edu/faq/2011/Feb/faq1.aspx>
3. Vincent, E., Zebelman, A., Goodwin, C. (2006). What common substances can cause false positives on urine screens for drugs of abuse? *J Fam Practice*, 55(10), 893-897.
4. Saitman, A., Park, H., Fitzgerald, R. (2014). False-Positive Interferences of Common Urine Drug Screen Immunoassays: A Review. *J Anal Toxicol*. 38, 387-396.
5. Center for Substance Abuse Treatment. (2012). Addiction Counseling Competencies: The Knowledge, Skills, and Attitudes of Professional Practice. Technical Assistance Publication (TAP) Series 32 (HHS Publication No. (SMA) 12-4668. Rockville, MD: Clinical Drug Testing in Primary Care.
6. Kwong, T. (2008). Clinical False-Positive Drug Test Results. De: *Handbook of Drug Monitoring Methods: Therapeutics and Drugs of Abuse*. Springer. Pp 395-406.
7. Smith, M., Nicols, D., Underwood, P., Fuller, Z., Moser, M., Flegel, R., Gorelick, D., Newmeyer, M., Concheiro, M., Huestis, M. (2014). Methamphetamine and Amphetamine Isomer Concentrations in Human Urine Following Controlled Vicks VapoInhaler Administration. *J Anal Toxicol*, 38, 524-527.
8. Liu, L., Wheeler, S., Rymer, J., Lower, D., Zona, J., Peck-Palmer, O., Tamama, K. Ranitidine interference with standard amphetamine immunoassay. *Clinica Chimica Acta*, 2015. 438: 307-308.
9. Buening, NR. (2013). Lab/Drug Interactions and Drugs of Abuse. En: Attridge RL, Miller ML, Moote R, Ryan L. eds. *Internal Medicine: A Guide to Clinical Therapeutics*. New York, NY, McGraw-Hill; Obtenida el 02/02/2015 de <http://accesspharmacy.mhmedical.com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr:2048/content.aspx?bookid=565&Sectionid=42003771>.
10. Fenderson, J., Stratton, A., Domingo, J., Matthews, G., Tan, C. (2013, Enero 30) Amphetamine Positive Urine Toxicology Screen Secondary to Atomoxetine. *Case Reports in Psychiatry*. 2013. Consultada el 12/01/2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3570929/>
11. Weintraub, D., Linder, M. (2000). Amphetamine positive toxicology screen secondary to bupropion. *Depression & Anxiety*, 12(1), 53-54.
12. Depriest, A., Knight, J., Doering, P., Black, D. (2013). Pseudoephedrine and False-Positive Immunoassay Urine Drug Tests for Amphetamine. *Pharmacother*, 33(5), 88-89.
13. Fucci, N. (2012). False positive results for amphetamine in urine of a patient with diabetes mellitus. *Forc Sci International*, 223(1-3), e60.
14. Pavletic, A., Pao, M. (2014). Popular Dietary Supplement Causes False-Positive Drug Screen for Amphetamines. *Psychosomatics*, 55 (2), 206-207.

15. Judkins, C., Prock, P.(2013). Supplements and Inadvertent Doping-How is the Big Risk to Athletes? *Med Sport Sci*, 59, 143-152.
16. Smith, M., Nicols, D., Underwood, P., Fuller, Z., Moser, M., Flegel, R., Gorelick, D., Newmeyer, M., Concheiro, M., Huestis, M. (2014). Morphine and codeine concentrations in human urine following controlled poppy seeds administration of known opiate content. *Forensic Sci Int*, 241, 87-90.
17. Backmund, M., Meyer, K., Von Zielonka, M., Eichenlaub, D. (2000). Ofloxacin causes false-positive immunoassay results for urine opiates. [Internet]. *Addiction Biology* 5(3), 319-320.
18. Budai, B., Iskandar, H. (2002). Dextromethorphan can produce false positive phencyclidine testing with HPLC. *Am J Emerg Med*, 20(1), 61-62.
19. Geraci, M., Peele, J., McCoy, S., Elias, B. (2010). Phencyclidine false positive induced by lamotrigine (Lamictal®) on a rapid urine toxicology screen. *Int J Emerg Med*, 3, 327-331.
20. Rohrich, J., Zornstein, S., Lotz, J., Becker, J., Kern, T., Rittner, C. (1998). False-positive LSD testing in urine samples from intensive care patients. *J Anal Toxicol*, 22, 393-395.
21. Vidal, C., Skripuletz, T. (2007). Bupropion Interference with Immunoassays for Amphetamines and LSD. *The Drug Monit*, 29(3), 373-376. [4](#)

Revisión general sobre los microarreglos y sus aplicaciones

Danny Alvarado-Romero¹

Resumen:

Los microarreglos se definen como un sistema de alto rendimiento que utiliza diferentes especímenes biológicos inmovilizados sobre una fase sólida, espacialmente ordenados, identificados y distribuidos uniformemente en una alta densidad. El microarreglo de ADN consiste en segmentos de ácidos nucleicos de secuencia conocida unidos a una superficie sólida y plana, que permite realizar simultáneamente múltiples hibridaciones en paralelo gracias a la complementariedad de bases. Dicha tecnología presenta numerosas aplicaciones en el campo agropecuario, veterinario y clínico, entre otros. El objetivo de este artículo es brindar una definición general del término microarreglo y explicar ciertos aspectos de su fabricación, describir algunos puntos importantes de la metodología y mencionar ciertas aplicaciones clínicas como la hibridación genómica comparada y los microarreglos de polimorfismos de un único nucleótido.

Palabras clave: Arreglos, microarreglos de ADN, microarrays, hibridación genómica comparada, aCGH, microarreglo de SNP.

Abstract:

Microarrays are defined as high performance systems that consist of several different biological specimens immobilized on top of a solid phase in an organized manner, accurately identified, and uniformly distributed in high densities. The DNA microarray consists of nucleic acid segments of a known sequence bound to a flat solid surface which enables multiple hybridizations to take place thanks to complementary base pairing. This technology has numerous applications in the agropecuarian, veterinarian and clinical fields among many others. The goal behind this article is to provide a general definition of the term "microarray", to explain certain aspects about their manufacturing, to describe relevant steps in their methodology and to mention some of the clinical applications such as the compared genomic hybridization and the single nucleotide polymorphism microarray.

Key words: Arrays, DNA microarrays, microarrays, compared genomic hybridization, aCGH, SNP microarray.

Artículo recibido el 15/05/2015 / Aceptado para su publicación el 04/06/2015.

1. Laboratorio Nacional de Tamizaje Neonatal y Alto Riesgo, Hospital Nacional de Niños, CCSS

Correspondencia: dalvarador@tamizajecr.com

Introducción

En las últimas décadas, se ha observado un acelerado desarrollo en las tecnologías biológicas que han permitido innovar y revolucionar procesos que antes parecían complejos e imposibles. El ámbito clínico no ha sido la excepción, frecuentemente se publican nuevas técnicas y metodologías que permiten no solo obtener un diagnóstico correcto, sino también un abordaje terapéutico más efectivo. Un claro ejemplo de esto es la tecnología de los microarreglos de ácido desoxirribonucleico, la cual tiene un sin número de aplicaciones en diferentes áreas como la veterinaria, agropecuaria, ambiental, clínica, entre otras.

El objetivo de este artículo es brindar una definición general del término microarreglo, explicar ciertos aspectos de su fabricación, describir algunos puntos importantes de la metodología y mencionar ciertas aplicaciones clínicas. Debe ser de especial interés para todos los microbiólogos y químicos clínicos conocer sobre esta tecnología pues se ha convertido en una herramienta más en los laboratorios clínicos de países desarrollados. Es responsabilidad de nosotros introducir este tipo de tecnologías en el ámbito clínico de nuestra realidad nacional.

Generalidades de los microarreglos: historia y definición

La tecnología de los microarreglos es la sumatoria de una serie de descubrimientos e innovaciones, en el campo de la biología molecular, que iniciaron desde 1953 con la propuesta del modelo estructural del ADN. La descripción de las reacciones de desnaturalización y renaturalización del ADN, la invención de los métodos de “dot blot” y “dot blot reverso”, la hibridación *in situ*, los inmunoensayos ligados a enzimas, la técnica de northern blot, el descubrimiento de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), la tecnología del ADN recombinante y la síntesis de péptidos en fase sólida son solo unos cuantos pasos para llegar a lo que hoy en día conocemos como microarreglos de ácidos nucleicos.

Aunque el concepto de microarreglos surge a mediados de los años 80, fue hasta principios de los 90 que se diseñan los primeros microarreglos sobre un soporte sólido impermeable. Desde entonces, nuevas técnicas y materiales han permitido el desarrollo y expansión de la tecnología^(1, 2, 3).

No cabe duda que el ámbito científico fue fuertemente impactado con la introducción de los arreglos. Sin embargo, pocos están conscientes del papel protagónico que desempeñó el sector privado, como empresas

biotecnológicas y compañías industriales, que revolucionaron el sector económico y comercial, iniciando así una era de empresas tecnológicas. Los microarreglos o chips, tal como los conocemos actualmente, se originaron a partir de investigaciones en el sector farmacéutico e industrial. En un inicio, el objetivo de investigación era el diseño y síntesis de nuevos péptidos en fase sólida con potencial farmacológico; para facilitar y acelerar este objetivo se implementó la tecnología de activación mediante luz (fotolitografía) utilizada en industrias de semiconductores. La empresa pionera en ese entonces fue Affymax. Con el advenimiento de todos los avances en biología molecular y el inicio de la era genómica, todos los esfuerzos dirigidos en chips de péptidos tomó un nuevo rumbo hacia los ácidos nucleicos. Surge así la empresa Affymetrix, que lanza al mercado, a mediados de los años 90, los GeneChips®. Desde entonces, nuevas empresas se han sumado en la producción y comercialización de microarreglos y sus plataformas analíticas como Agilent, Illumina, Roche NimbleGen, OGT y BlueGnome, entre otras.^(3, 4, 5)

De forma general, podemos definir el término microarreglo como un sistema de alto rendimiento que utiliza diferentes especímenes biológicos inmovilizados sobre una fase sólida, espacialmente ordenados, identificados y distribuidos uniformemente en una alta densidad. Dichas entidades biológicas pueden ser ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, carbohidratos, células enteras o tejidos. Por tanto, podemos inferir que existen muchos tipos de microarreglos^(2, 3, 5). El arreglo de ADN es una técnica principalmente de hibridación, en la cual una gran cantidad de moléculas de ADN se encuentran inmovilizadas sobre una superficie sólida. Dentro del grupo de microarreglos de ADN se han diseñado diferentes tipos de chips según el objetivo de la técnica. Existen arreglos para un segmento específico o bien para un gen determinado, para porciones de un cromosoma, para un cromosoma completo o bien para todo el genoma⁽⁶⁾. Los diseños pueden realizarse según las especificaciones del usuario, lo cual resulta muy útil en el campo de la investigación.

El microarreglo de ADN consiste en segmentos o sondas de ácido nucleico de secuencia conocida unidas a una superficie sólida y plana, usualmente una lámina de vidrio. La ubicación y distribución de estos segmento en la lámina es uniforme y ordenada, de ahí el nombre arreglo por la traducción del término en inglés *array*^(7, 8, 9). Esta distribución ordenada del chip permite realizar múltiples hibridaciones de forma paralela entre las moléculas fijadas en la lámina y el ADN presente en la muestra que es agregado sobre la superficie de la lámina⁽⁷⁾. Estos procesos

de hibridación se dan gracias a la complementariedad que existen entre las bases nitrogenadas ⁽⁸⁾.

Los primeros microarreglos construidos utilizaron cromosomas bacterianos artificiales y cromosomas artificiales de levaduras (BAC y YAC, por sus siglas en inglés), plásmidos, cósmidos y fósmidos para insertar los segmentos de ADN. En estos casos, los clones de ADN eran segmentos muy grandes, entre 150 y 200 kb, aproximadamente. Estos primeros arreglos permitían una resolución de 1 Mb, lo que impedía detectar microdeleciones y microduplicaciones. Posteriormente, se desarrollaron las sondas de oligonucleótidos que reemplazaron rápidamente los BAC y YAC en el campo clínico; así se supera el inconveniente de detectar los microcambios moleculares y permite colocar miles de sondas en una única lámina o arreglo. Inicialmente, se colocaban entre cientos y unos cuantos miles de sondas por lámina; actualmente, con los oligonucleótidos, se permiten colocar más de 250 000 sondas por lámina ^(5, 6, 9, 10).

Métodos de fabricación y tipos de microarreglos

En sus inicios, los segmentos de ADN eran fijados mediante interacciones electrostáticas inducidas al agregar polilisina; se tenía la limitante de que este interfiriera durante el proceso de hibridación ⁽⁷⁾. Alternativamente, se pueden unir mediante uniones covalentes al modificar los grupos aminos de los productos de PCR, mediante una serie de reacciones químicas y físicas.

Actualmente, las casas comerciales utilizan diferentes tecnologías para fijar las moléculas de ADN; la fotolitografía es una de las más difundidas y, más recientemente, se cuenta con el diseño de nuevos polímeros y semiconductores fotoresistentes que permiten la unión del ADN con mayor eficiencia ^(2,7,11-16).

En la actualidad, se identifican dos grandes formatos de arreglos de ADN: los que emplean clones mayores de 100 bp (microarreglo de ADNc) y oligonucleótidos con aproximadamente 25-80 nucleótidos de largo ^(3,7). Los arreglos de segmentos grandes, usualmente, se construyen utilizando productos de PCR cercanos a 1 kb, obtenidos de las bibliotecas de ADN copia o de una secuencia específica. Estos productos de PCR son depositados ordenadamente en forma de microgotas sobre la lámina de vidrio “activada” o membrana de nailon; a este proceso se la conoce como *printing* o *spotting* ⁽⁷⁾. Dicho proceso se realiza totalmente automatizado por medio de brazos robóticos; se depositan, aproximadamente, unos 5 nanolitros a una distancia específica entre cada *spot* que ronda entre los 200-400 μm ; cada uno de estos *spots*

contiene millones de copias de moléculas de ADN puro ^(3, 11, 13, 16).

Por otro lado, los microarreglos de oligonucleótidos pueden ser fabricados de diferentes formas. En una primera instancia, los oligonucleótidos pueden ser sintetizados por cualquiera de los métodos convencionales de síntesis artificial de oligonucleótidos y luego ser fijados por medio de reacciones químicas y físicas. Sin embargo, la síntesis *in situ* del oligonucleótido directamente sobre la superficie del soporte es de los métodos comercialmente más difundidos. Como ya se mencionó, Affymetrix emplea la técnica de fotolitografía con luz ultravioleta para dirigir selectivamente la unión de cada nucleótido simultáneamente en todos los *spots*. Agilent, por su parte, desarrolló una tecnología tipo impresora de inyección de tinta (*ink-jet technology*), con la cual, selectivamente, “imprime” nucleótido por nucleótido sobre el soporte y lo inmoviliza por medio de ciertas reacciones químicas ^(2, 3, 17). Otras empresas han desarrollado, no solamente nuevos métodos de fabricación, sino también, nuevos formatos de arreglos como las micropartículas de Illumina con la tecnología Bead Array que desarrolló los Sentrix® BeadChips ⁽¹⁷⁾(Ver figura 1).

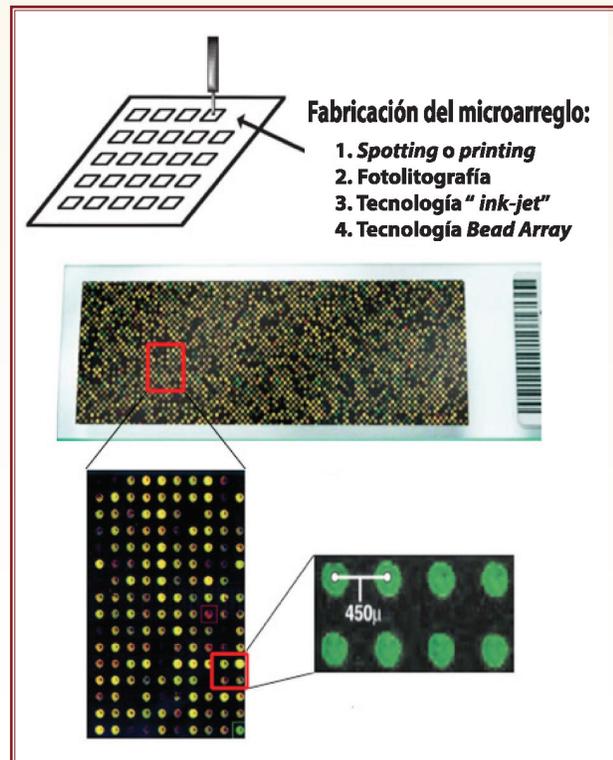


Figura 1. Microarreglo de ADN. Existen dos grandes formatos de microarreglos de ADN: los que utilizan moléculas de ADNc y los que utilizan oligonucleótidos.

Nota: Tomado y adaptado de: DeRisi *et al*, 1996 y Hacia *et al*, 1998

Microarreglos de ADN: hibridación genómica comparada y microarreglos de SNP

Algunas condiciones clínicas como anomalías congénitas, dismorfismos, retrasos en el desarrollo, autismo, abortos espontáneos, trastornos psiquiátricos y otra serie de síndromes genéticos pueden ser causadas por aneuploidías o alteraciones estructurales cromosómicas^(6, 7, 10). Este tipo de anomalías, usualmente, son detectadas por medio de métodos citogenéticos convencionales como tinción de cromosomas metafásicos e hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés)^(6, 9, 10). Sin embargo, estos métodos presentan ciertos inconvenientes. Por un lado, a través de la tinción no es posible detectar cambios pequeños menores de 4 Mb. Por otro lado, la técnica de FISH es un procedimiento lento que exige conocer la región cromosómica de interés y deja por fuera otra serie de desbalances cromosómicos que podrían tener importancia clínica^(6, 10).

La tecnología de los microarreglos no supera todos los inconvenientes del diagnóstico molecular de trastornos genéticos. No obstante, es una herramienta más que podría complementar el diagnóstico de distintas condiciones clínicas. La hibridación genómica comparada (CGH, por sus siglas en inglés, *Comparative Genomic Hybridization*) es una técnica molecular, relativamente novedosa en el campo de la investigación, que está abriendo camino aceleradamente en el diagnóstico clínico; usualmente se le conoce como microarreglos CGH, aCGH, microarreglos cromosómicos, microarreglos o arreglos^(5, 10). Su objetivo principal es realizar un tamizaje de alta resolución a lo largo del genoma completo para detectar variaciones en el número de las copias de segmentos genómicos (CNV, por sus siglas en inglés, *Copy Number Variations*); lo que permite identificar pérdidas o ganancias de copias de ADN⁽¹⁰⁾.

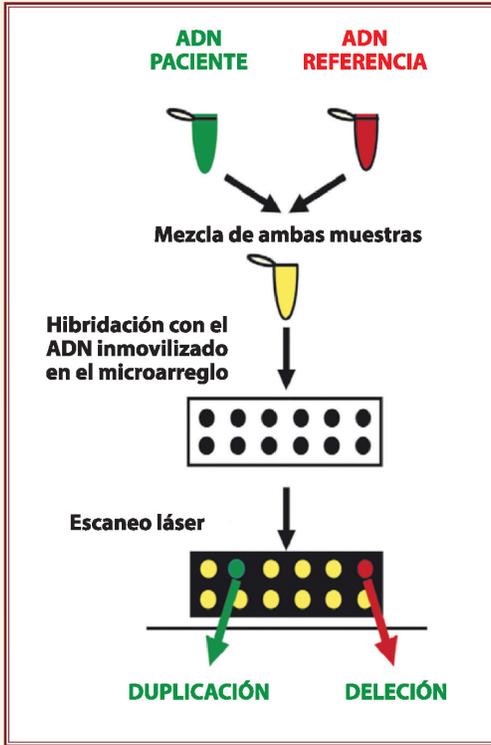
Inicialmente, esta tecnología se utilizó en investigaciones sobre desbalances genómicos en el área oncológica, pero, actualmente, sus alcances llegan hasta el diagnóstico de varias enfermedades genéticas, convirtiéndose en una herramienta esencial y rutinaria en laboratorios de genética molecular^(6, 9, 10). La mayoría de las plataformas de aCGH está diseñada para detectar aneuploidías, microdeleciones, microduplicaciones y otros desórdenes cromosómicos^(6, 10). La muestra de elección es sangre total colectada en tubos con ácido etildiaminotetraacético (EDTA). Una vez extraído el ADN, este se deposita en los arreglos y se deja incubar durante un tiempo y temperatura determinada que favorezca el proceso de hibridación⁽⁵⁾. Posteriormente, se detectan las distintas hibridaciones por medio de señales fluorescentes, quimioluminiscentes, colorimétricas o radioactividad^(2, 18).

En la técnica de los microarreglos CGH, se emplean dos muestras de ADN, una de ellas corresponde al ADN genómico del paciente y la otra al ADN de referencia con la cual se comparará el paciente. Cabe mencionar que este ADN de referencia corresponde a un material genético proveniente de una persona sana o bien un control. Ambas muestras son marcadas, diferencialmente, con alguna molécula fluorescente y co-hibridados competitivamente con segmentos de ADN normales de secuencia conocida previamente fijados en una fase sólida. Se pueden identificar, según la diferencia de señales detectadas, rearrreglos cromosómicos desbalanceados menores de 3 Mb con una buena resolución en todo el genoma^(6, 10).

Las señales fluorescentes detectadas son comparadas entre sí. Al detectar un desequilibrio de señales en la razón paciente/referencia, se podría inferir cuál es el desbalance en cuestión en una región específica. Es decir, si se detecta una mayor fluorescencia por parte de la muestra del paciente, se sospecha de una duplicación. Por otro lado, si se detecta mayor fluorescencia del ADN de referencia, se sospecha de una deleción^(6, 10). A manera de ejemplo: si se marca el ADN de referencia con un fluorocromo rojo y el ADN del paciente con uno verde, en condiciones normales, se detecta una señal de color amarillo producto de las proporciones equitativas de ambas muestras. En caso de una deleción, se rompen las proporciones y se detectaría una coloración roja del ADN de referencia. Por otro lado, en caso de duplicaciones, se detectaría un aumento de la señal de color verde. Este proceso de análisis es realizado por paquetes informáticos provistos por cada casa comercial^(6, 16) (Ver figuras 2 y 3).

Posterior al proceso de hibridación, cada uno de los *spots* es excitado mediante rayo láser y escaneado a ciertas longitudes de onda específicas para detectar la luz emitida por los marcadores fluorescentes utilizados. La cantidad de luz detectada corresponde directamente a la cantidad de ácidos nucleicos unidos en el chip. Al final del ensayo, se obtiene una imagen del microarreglo, en la cual cada *spot* posee un valor de fluorescencia que representa la presencia o no del gen o secuencia analizada. La imagen obtenida debe ser procesada, transformada y normalizada para poder interpretar los resultados finales⁽¹⁶⁾.

La mayoría de las casas comerciales provee, junto al escáner, los diferentes paquetes computacionales para procesar dichas imágenes. En un primer paso se debe localizar e identificar el *spot* dentro del microarreglo para así distinguirlo de cualquier otra fluorescencia que se pueda detectar. Como se mencionó anteriormente, el proceso de *printing* actualmente es automatizado y ordenado, lo que facilita la localización de cada *spot*⁽¹⁶⁾ (Ver figura 3).



Posteriormente, se define el área dentro del *spot* que se va analizar y así diferenciarla de la señal de fondo. Existen dos métodos para estimar la señal proveniente del *spot*. El primer método consiste en definir, previamente, un tamaño de área determinado y posicionarlo en el centro del *spot*; este es mucho más barato, pero más propenso a errores a la hora de estimar la intensidad de la señal de fondo. El segundo método consiste en definir detalladamente el límite del *spot* e incluir únicamente los píxeles ubicados dentro de estos límites. Este método estima de mejor manera la intensidad del *spot*, pero tiene la desventaja de que computacionalmente necesita equipos con mayor capacidad y el procesamiento es más lento ⁽¹⁶⁾ (Ver figura 3).

Una vez que se han definido las áreas por analizar, se calcula una serie de parámetros que facilitarán la interpretación de los resultados. De forma general, se realiza un conteo de los píxeles y se estima el promedio (conocido como *k media*) y la mediana, tanto del área del *spot* como del área alrededor del mismo, para estimar la señal de fondo. Otro aspecto importante por considerar es el número de los píxeles, el cual va a depender del equipo utilizado. La mayoría de los escáneres detectan píxeles de 10 µm, es decir, en un *spot* de 200 µm de diámetro se contabilizan aproximadamente 314 píxeles. En casos cuando el *spot* es mucho más pequeño o se desea aumentar la resolución, se recomienda medir píxeles de 5 µm, con el inconveniente de que la información obtenida será de mayor peso ⁽¹⁶⁾.

Figura 2. Esquema de Hibridación Genómica Comparada. Se emplean dos muestras de ADN, una del paciente (marcada de color verde) y la otra de referencia (rojo) con la cual se comparará el paciente.

Nota: Tomado y adaptado de Shinawi y Cheung, 2008.

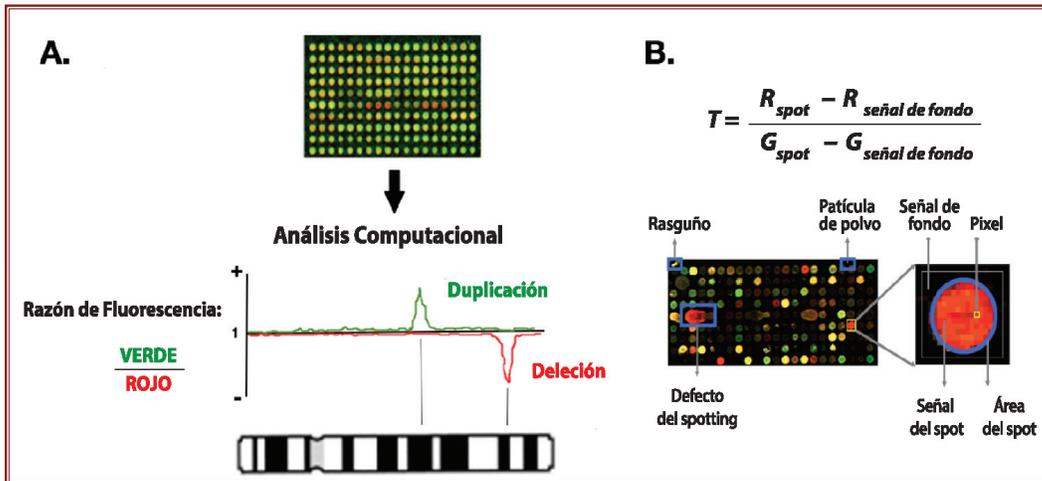


Figura 3. Análisis de datos. A. Con base en las intensidades de fluorescencia emitida por las moléculas de ADN hibridadas en el microarreglo se calcula una razón de fluorescencia (paciente:referencia o verde:rojo). Gracias a que se conoce la identidad de cada uno de los spots, los sistemas informáticos localizan a nivel cromosómico el sitio preciso donde se encuentra la mutación. B. La intensidad de la fluorescencia es medida a través del conteo de los píxeles. La razón matemática de la fluorescencia (T) se calcula con base en los píxeles emitidos por el ADN del paciente (R) entre los píxeles del ADN de referencia (G). Es importante resaltar que a ambas señales se le debe restar la señal de fondo.

Nota: Tomado y adaptado de: Rare Chromosome Disorder Support Group; Babu, 2004.

La intensidad obtenida puede ser reportada a través de razones matemáticas de las medias (T). Donde R representa la intensidad medida en píxeles (k media) de la muestra analizada y G la del material de referencia. A dichas mediciones se les debe restar las señales de fondo (Ver figura 3). En el proceso de análisis de las imágenes, en algunos casos, es necesario transformar los datos mediante conversiones logarítmicas o inversas. Finalmente, los datos deben ser normalizados para corregir todas aquellas variaciones que puedan obstaculizar una correcta comparación e interpretación de los resultados ⁽⁶⁾. Afortunadamente, dichos procesos estadísticos y matemáticos son realizados de forma automática por los distintos programas de las casas comerciales.

Paralelo al proceso de medición de la señal fluorescente, los softwares disponibles identifican en qué posición cromosómica se encuentra la alteración, según el clon o constructo donde se detecte el desequilibrio en la razón de señal referencia/paciente ⁽⁶⁾.

Una vez detectado un desbalance cromosómico, este debe ser confirmado por medio de procedimientos citogenéticos, amplificaciones, secuenciación, o bien otro microarreglo con una plataforma de mayor resolución ^(6,10). Este proceso de confirmación es fundamental cuando se utilizan clones en fase experimental, pues muchos de estos no corresponden a la secuencia de clones de referencia, no están incluidas dentro de la gama de marcadores FISH o no coinciden con estos. Este proceso es importante para normalizar la información disponible y prevenir errores y confusiones a la hora de interpretar un resultado, pues la información arrojada por un microarreglo debe coincidir con la arrojada por un FISH ⁽⁶⁾.

Como se puede notar, uno de los mayores requisitos de la CGH es contar con una plataforma de alta capacidad de resolución. Es decir, con una sensibilidad de detección adecuada para pequeñas señales de fluorescencia. Además del escáner, es necesario contar con paquetes informáticos poderosos para procesar los datos obtenidos.

¿Cuáles son los resultados que podemos esperar en una aCGH?

Podemos distinguir tres tipos de resultados de una CGH. En primer lugar, un resultado normal que indica la ausencia de desbalances clínicamente significativos, es decir, no se detectan duplicaciones o deleciones según la resolución del arreglo empleado y no es necesario estudios parentales posteriores. Por otro lado, encontramos un resultado “anormal” cuando se detectan desbalances (deleciones y duplicaciones) que poseen suficiente evidencia clínica para relacionarlos con una patología específica, de ahí la importancia de contar con acceso a bases de datos actualizadas; en estos casos se recomienda

realizar estudios parentales cuando se sospecha de translocaciones o bien que uno de los progenitores presenta ciertos síntomas ⁽⁵⁾. El último tipo de resultado corresponde a cuando se detecta un desbalance con poca evidencia clínica. El hallazgo puede corresponder a una simple variante que no está relacionada con el cuadro clínico o bien una alteración patológica totalmente nueva. Aquellos resultados dudosos podrían ser subclasificados como probablemente benignos o probablemente patológicos, según la información disponible en ese momento ⁽⁵⁾.

Ventajas y desventajas de la aCGH

Entre las ventajas que ofrece la aCGH, se mencionan: alta resolución, automatización, robustez, simplicidad, rapidez, alta reproducibilidad, detección precisa de aberraciones, tiempo de respuesta más cortos, no se necesita cultivo de células, se necesitan pocos microgramos de ADN genómico y, en casos de microarreglos del genoma completo, se obtienen resultados inesperados que pueden ser muy útiles para establecer o complementar el diagnóstico. Además, detecta duplicaciones y mosaicismos que no pueden ser identificadas por medio de los procedimientos usuales de citogenética ^(6, 9, 10). Para ejemplificar la rapidez de la técnica, analizar 5 Mb de una región subteloamérica se necesitan más de 2 000 hibridaciones individuales, mientras que en un microarreglo se podría analizar el cromosoma completo en pocos pasos ⁽⁶⁾.

Su limitante principal es la incapacidad de detectar poliploidías y rearrreglos balanceados como translocaciones e inversiones. Las plataformas que gozan de buena resolución son muy costosas y en ciertos casos los resultados arrojados son de difícil interpretación tal como ocurre con variaciones en el número de copias de ADN de significado patológico incierto o *de novo* y otros polimorfismos ^(6, 9, 10).

Arreglos de polimorfismos de un único nucleótido

Además de los arreglos de oligonucleótidos, los arreglos de SNP (siglas en inglés de polimorfismos de un único nucleótido) ocupan el segundo lugar de chips utilizados en el campo clínico. Recordemos que un SNP se define como la variación de un solo nucleótido o unos cuantos en la secuencia de ADN entre un par de cromosomas, entre individuos, entre poblaciones o entre especies generando diferentes alelos para un mismo locus ^(2, 5, 9).

En el genoma humano encontramos más de 10 millones de SNP, muchos de ellos ampliamente descritos y relacionados con manifestaciones clínicas. Además, para ciertos *loci* ya se conocen cuáles son los alelos que poseen,

lo que permite el diseño de arreglos de SNP que brindan información sobre la cigosidad, información que no puede ser obtenido a través de las sondas de oligonucleótidos, pues únicamente detectan CNV⁽⁵⁾.

Como se mencionó anteriormente, es importante contar con acceso a bases de datos para poder interpretar correctamente los resultados obtenidos. Por ejemplo, se cuenta con la base de datos ClinGen: Clinical Genome Resources (<http://clinicalgenome.org/>) que contiene los lineamientos estandarizados para diseñar arreglos e interpretar sus resultados. Dicha base de datos contiene toda la información y herramientas brindadas por el Consorcio Internacional de Arreglos Citogenéticos (ISCA, por sus siglas en inglés). Otra base de datos es DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensemble Resources), la cual provee información relacionada al fenotipo de las distintas alteraciones identificadas a nivel mundial (<https://decipher.sanger.ac.uk/>)⁽⁵⁾.

Aplicaciones del aCGH

Diversos estudios han demostrado, aproximadamente, un 15% de efectividad en detectar anomalías cromosómicas relacionadas con el retardo mental, frente al 3.7% del bandedo de cromosomas y 2.5-7% del FISH^(10, 19, 20). Además, se ha observado una tasa de detección entre el 10 y 16% en alteraciones *de novo* en pacientes con retraso mental y retraso en el desarrollo^(10, 21, 22).

Otras investigaciones realizadas en pacientes con autismo o sospecha de padecerlo han logrado detectar cambios *de novo* en la variación de número de copias de ADN (CNV), microdeleciones y microduplicaciones. Por otro lado, se ha demostrado que aCGH posee la más alta sensibilidad para detectar alteraciones desbalanceadas en pacientes con características dismórficas y anomalías congénitas múltiples. Además, se ha observado que pacientes con defectos balanceados, identificados por técnicas citogenéticas, poseen alteraciones desbalanceadas que en un principio pasaron desapercibidas⁽¹⁰⁾.

Gracias a la sensibilidad molecular, a la alta resolución de las plataformas y a la cooperación internacional, mediante bases de datos en línea, se han logrado identificar y describir nuevos síndromes producto de microdeleciones y microduplicaciones, así como redefinir características de síndromes ya conocidos. Además, estos microarreglos pueden ser utilizados para identificar genes causantes de enfermedad⁽¹⁰⁾.

Con respecto a los análisis prenatales, los microarreglos de CGH tienen la sensibilidad y validez para detectar todos los rearrreglos submicroscópicos que no pueden

ser identificados mediante la tinción de bandas en un cariotipo. También se ha observado que esta técnica detecta un 16% de desbalances genómicos en cariotipos normales de fetos con múltiples malformaciones^(6, 10). Sin embargo, es importante ser cautelosos con los resultados obtenidos, pues en la mayoría de las situaciones, se obtienen datos completamente nuevos o con muy poca evidencia clínica que respalde una correcta interpretación y asesoramiento prenatal⁽²³⁾.

En el campo de la oncología, aCGH provee información para identificar y localizar oncogenes; se convierte así en una herramienta útil en el diagnóstico, clasificación y pronóstico de diferentes tipos de cáncer. Por otro lado, tiene el potencial de clasificar tumores y predecir el grado de progreso según el perfil de expresión de ciertos genes. En la literatura podemos encontrar diversos estudios de expresión en varios tipos de adenocarcinomas, leucemia mieloide aguda, carcinoma de vejiga de células de transición, cáncer de seno, entre otros^(9, 10, 18).

Otras aplicaciones

Es importante aclarar que la técnica de hibridación genómica comparada es un método más que utiliza microarreglos de ADN. Existen otras metodologías de hibridación en chips con otras aplicaciones, por ejemplo, comercialmente están disponibles microarreglos de ARNr para el diagnóstico de infecciones bacterianas y virales en muestras de sangre, aspirados traqueales, líquido cefalorraquídeo y muestras diarreicas entre otras. Este tipo de métodos tiene el potencial de ser utilizado en la identificación de cultivos bacterianos y determinación del perfil de sensibilidad a los antibióticos según las mutaciones identificadas⁽¹⁷⁾. Así mismo, es importante no olvidar todas las alternativas en el campo de la farmacogenómica, pronóstico y tratamientos oncológicos, y detección de mutaciones específicas en trastornos hormonales y metabólicos, entre otras^(2, 18).

Sin lugar a duda, son numerosas las aplicaciones que están por desarrollarse y que utilicen como base la tecnología de los microarreglos. Hace 14 años, Edwin Southern escribió que era muy prematuro escribir la historia de los microarreglos, pues tenía más futuro que pasado; actualmente, esta situación continúa siendo una realidad. Así como sucedió con los métodos de PCR, pronto estaremos familiarizados a escuchar el término chip o microarreglo entre los pasillos del laboratorio.

Referencias

1. Southern, E. (2001) DNA Microarrays. DNA Arrays: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology. Editado

- por J. Rampal. Volumen 170. Humana Press Inc. EEUU. pp 1 – 15.
2. Heller, MJ. (2002) DNA Microarray Technology: Devices, systems and applications. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 4, 129-153.
 3. Choudhuri, S. (2004) Microarrays in Biology and Medicine. *J Biochem Molecular Toxicology*, 18(4), 171-179.
 4. Lenoir, T., Giannella, E. (2006) The emergence and diffusion of DNA microarray technology. *J. Biomed. Discov, Collab.* 1(11), 39p
 5. Crotwell, P., Hoyme, E. (2012) Advances in Whole-Genome Genetic Testing: From Chromosomes to Microarrays. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, 42, 47-73.
 6. Shaffer, L., Bejjani, B. (2004) A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Human Reprod Update*, 10(3), 221-226.
 7. Hacia, J., Brody, L., y Collins, F. (1998) Applications of DNA chips for genomic analysis. *Molecular Psychiatry*, 3, 483-492.
 8. Barrero, R. (2005) Aplicaciones de la técnica de microarrays en ciencias biomédicas: presente y futuro. *Revista Química Viva*, 3, 91-100.
 9. Bejjani, B., Theisen, A., Ballif, B. et al. (2005) Array-based comparative genomic hybridization in clinical diagnosis. *Expert. Rev. Mol. Diagn*, 5(3), 421- 429.
 10. Shinawi, M., Cheung, S.W. (2008) The array CGH and its clinical applications. *Drug Discov Today*, 13(17/18), 760-770.
 11. DeRisi, J., Penland, L., Brown, P.O. et al. (1996) Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nature Genet*, 14, 457-460.
 12. Schena, M., Shalon, D., Heller, R. et al. (1996) Parallel human genome analysis: microarray-based expression monitoring of 1000 genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 10614-10619.
 13. Shalon, D., Smith, S., Brown, P. (1996) DNA Microarray System for Analyzing Complex DNA Samples Using Two-color Fluorescent Probe Hybridization. *Genome Res*, 6, 639-645.
 14. Lashkari, D., DeRisi, J., McCusker, J. et al. (1997) Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis. *Proc Natl Acad Sci*, 94, 13057-13062.
 15. McGall G., Labadie J., Brock P. et al. (1996) Light-directed synthesis of high-density oligonucleotide arrays using semiconductor photoresists. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93, 13555-13560.
 16. Babu, M. (2004) Capítulo 11: An Introduction to Microarray Data Analysis. *Computational Genomics: Theory and Application*. Editado por: Richard P. Grant. Horizon Bioscience. Reino Unido. 350 pp.
 17. Miller, M., Tang, Y-W. (2009) Basic Concepts of Microarrays and Potential Applications in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev*, 22(4), 611-633.
 18. Ewis, A., Zhelev, Z., Bakalova, R. et al. (2005) A history of microarray in biomedicine. *Expert Rev Mol Diag*, 5(3), 315-328.
 19. Vissers, L.E. et al. (2003) Abased comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet*, 73, 1261-1270.
 20. Shaw-Smith, C. et al. (2004) Microarray based comparative genomic hybridization (aCGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features. *J Med Genet*, 41, 241-248.
 21. Engels, H. et al. (2007) DNA microarray analysis identifies candidate regions and genes in unexplained mental retardation. *Neurology*, 68, 743-750
 22. Rosenberg, C. et al. (2006) Array-CGH detection of micro rearrangements in mentally retarded individuals: clinical significance of imbalances present both in affected children and normal parents. *J Med Genet*, 43, 180-186.
 23. Evangelidou, P., Sismani, C., Ioannides, M. et al. (2010, Noviembre 26) Clinical application of whole-genome array CGH during prenatal diagnosis: Study of 25 selected pregnancies with abnormal ultrasound findings or apparently balanced structural aberrations. *Molecular Cytogenetics*. 3(24). Consultado el 06/02/2015, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3002366/> 

Estudio de la calidad fisicoquímica y bacteriológica de la leche humana colectada en el Banco de Leche Humana del Hospital Carlos Luis Valverde Vega

Yahaira Ramos-Chavarría¹

Resumen:

Se analizan los resultados obtenidos en los procesos de selección, clasificación y pasteurización en el Banco de Leche Humana desde junio de 2011 hasta diciembre de 2014, con el fin de evaluar la calidad fisicoquímica y la seguridad microbiológica de la leche humana colectada y de la leche pasteurizada. Se analiza el porcentaje de rechazo por suciedades, la acidez Dornic (°D), el contenido energético y el control microbiológico postpasteurización. Se observa un porcentaje alto de rechazo por suciedades, sobre todo de la leche de donación domiciliar. La leche aceptada, luego de la revisión por suciedades, es 100% apta para consumo y muestra una gran variación en el contenido energético. Los controles bacteriológicos post pasteurización fueron negativos para todas las leches lo que garantiza la eficacia del proceso, por lo que el producto final puede considerarse leche pasteurizada de óptima calidad y extrema seguridad.

Palabras clave: Leche humana, calidad fisicoquímica, seguridad microbiológica.

Abstract:

The results obtained in the process of selection, classification and pasteurization of the Human Milk Bank from June 2011 to December 2014 were analyzed in order to evaluate the quality, physical-chemical and microbiological safety of collected human milk and pasteurized milk as the final product. The rejection rate was determined by dirt, Dornic acidity (°D), the energy content and microbiological control post pasteurization. A high percentage of rejection was observed for dirt, especially in household milk donation. The milk accepted after being checked for impurities was considered 100% suitable for consumption and showed a great variation in the energy content. The post pasteurization controls were negative for all the milk samples ensuring the effectiveness of the process, so that the final product can be considered pasteurized milk of optimal quality and extreme safety.

Key words: Human milk, physical-chemical quality, microbiological safety.

Introducción

La nutrición adecuada es fundamental para la supervivencia, crecimiento físico, desarrollo mental, desempeño, productividad, salud y bienestar durante toda la vida: desde las primeras etapas del desarrollo fetal y el nacimiento, hasta la lactancia, niñez, adolescencia y edad adulta⁽¹⁾. En el caso de los lactantes, la leche materna es, indiscutiblemente, el alimento óptimo; sus cualidades nutricionales e inmunológicas le ofrecen protección frente a enfermedades infecciosas a corto y largo plazo, y aseguran su desarrollo^(2,3). Se recomienda la lactancia materna exclusiva durante

los primeros seis meses de vida y hasta, al menos, los dos años de edad, complementada con otros alimentos⁽³⁻⁵⁾.

Cuando la lactancia no puede darse directamente de la madre a su hijo, la leche donada y pasteurizada en los bancos de leche humana (BLH) es la mejor opción para alimentar a los niños, especialmente para los prematuros y para aquellos niños que presentan alguna condición de salud especial^(2,6,7).

Los BLH se encargan de recolectar leche de otras madres, clasificarla, pasteurizarla, congelarla y distribuirla, garantizando la más alta calidad, a niños

Artículo recibido el 25/05/2015 / Aceptado para su publicación el 09/06/2015.

1. Laboratorio Clínico y Banco de Leche Humana. Hospital Carlos Luis Valverde Vega, CCSS.

Correspondencia: yaharamos@yahoo.com

que realmente la necesitan ^(8,9). Para asegurarse de que la leche humana pasteurizada (LHP) sea de óptima calidad y máxima seguridad, se le realiza, de rutina, controles fisicoquímicos a la leche donada. Estos controles evalúan ciertos parámetros como son: color, olor, suciedades, acidez titulable (Dornic), crematocrito, y se realiza un control bacteriológico una vez pasteurizada ⁽⁹⁾.

En Costa Rica funciona, desde el año 2011, un único BLH, específicamente en el Hospital Carlos Luis Valverde Vega (HCLVV), en San Ramón, provincia de Alajuela, Costa Rica. Este se adecúa a las normas y especificaciones técnicas dictadas por la Red Iberoamericana de Bancos de Leche. La presente investigación consistió en evaluar la calidad fisicoquímica y bacteriológica de la leche humana colectada desde junio de 2011 hasta diciembre de 2014; se tomó en cuenta el porcentaje de rechazo por suciedades, la acidez titulable (Dornic), el contenido energético y el control bacteriológico postpasteurización.

Materiales y métodos

Se realizó un análisis de los resultados obtenidos en los procesos de selección, clasificación y pasteurización del BLH desde junio de 2011 hasta diciembre de 2014. Se analizaron 2 590 muestras de leche humana procedentes de 299 donantes que acudieron a donar al BLH o lo hicieron desde sus domicilios.

Rechazo por suciedades: Todas las muestras fueron sometidas a los procedimientos de selección; se verificó embalaje, color, sabor y suciedades, según lo establecido en las *Guías Técnicas para el Funcionamiento de Bancos de Leche Humana*⁽⁹⁾.

Las 1 882 muestras aceptadas, luego de la verificación de suciedades, fueron clasificadas según el período de lactancia de la madre en calostros (primeros 6 días), leches de transición (7-14 días) y leche madura (≥ 15 días)⁽¹⁰⁾, y fueron sometidas a las siguientes determinaciones:

Acidez titulable (en grados Dornic [°D]): Se realizó según la técnica estandarizada de las *Guías Técnicas para el Funcionamiento de Bancos de Leche*, la cual consiste en una titulación de 1 ml de la muestra con NaOH 9N usando fenolftaleína al 1% en solución alcohólica como indicador. Esta determinación se ejecutó por triplicado y el valor final de la acidez Dornic correspondió a la media aritmética ⁽⁹⁾.

Cálculo del contenido energético (kcal/l): Se utilizó la técnica de Lucas ⁽¹¹⁾ para la determinación del crematocrito. Se extrajo una alícuota de 1 ml de leche y se calentó en baño maría a 40°C durante 10 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo se extrajeron 3 alícuotas de aproximadamente 75 μ l en tubos microcapilares. Se

cerró uno de los extremos del capilar con plastilina y se centrifugó por 15 minutos a 10 000 r.p.m. Se utilizó la fórmula: Contenido Energético Total (kcal/l) = % de crema x 66.8 + 290. El valor final corresponde a la media aritmética, resultado de las tres alícuotas ⁽⁹⁾.

Control bacteriológico: Se realizó la detección de coliformes totales en la leche ya pasteurizada: se inoculó 4 ml de leche de cada frasco en caldo bilis verde brillante al 5% y se incubó a 36°C por 48 horas; se siguió el procedimiento de las *Guías Técnicas para el Funcionamiento de Bancos de Leche Humana* ⁽⁹⁾.

Resultados y discusión

Rechazo por suciedades de leche humana ordeñada cruda (LHOC)

Se analizaron 2 590 muestras de leche humana procedentes de 299 donantes, para un total de 312 litros de LHOC. Del total de leche donada, 708 muestras (43%) fueron rechazadas por suciedades antes del proceso de pasteurización.

De los 312 litros recibidos, el 11% (35 l) fue donado en el domicilio de la donadora y de esta leche domiciliar 18 l fueron rechazados por presentar algún tipo de suciedad; eso significa que el 51% de la leche proveniente de donación domiciliar no cumple con los parámetros para ser aceptada. Por otro lado, de la leche donada en el centro de recolección del propio BLH, solo se rechazó el 26 %.

La Red Brasileña de Bancos de Leche Humana y la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria resaltan que la recolección de la leche puede realizarse en el domicilio de la donante ⁽¹²⁾, sin embargo, si las técnicas de higiene no son realizadas correctamente, además de favorecerse el crecimiento microbiano, se promueven el consumo de los factores de protección y la reducción del valor nutricional de la leche humana extraída. Para lograr que las donadoras realicen la extracción con rigor higiénico-sanitario es indispensable orientarlas sobre los procedimientos adecuados ⁽¹³⁾.

Aunque no se cuenta con una norma que indique qué porcentaje de rechazo puede ser aceptable, estudios como el de Mitsue en 2010 ⁽¹⁴⁾ reporta un 6% de rechazo por suciedades, por lo que el porcentaje de rechazo obtenido en la muestra analizada resulta bastante alto, lo cual sugiere que las orientaciones deben ser reforzadas.

Los demás parámetros del estudio se realizaron a las 1 882 muestras aceptadas luego de la revisión de suciedades. Se clasificaron según el período de lactancia de la donadora en: calostro (52 muestras), leche de transición

(109 muestras) y leche madura (1 721 muestras). Estas fueron sometidas a las siguientes determinaciones:

Acidez titulable (°D)

La leche humana presenta una acidez original dada por sus componentes que oscila entre 1.0 y 4.0°D, y una acidez desarrollada por ácido láctico producido por el crecimiento bacteriano ⁽¹⁰⁾. Al analizar las 52 muestras de calostro, se observa un promedio de 3.32°D con desviación estándar de 1.07; esto se traduce en que la mayor parte de los datos de acidez se distribuyen entre 2.25 y 4.39. De las 109 muestras de leche de transición, se obtiene un promedio de 3.79 °D con una desviación estándar de 0.90; la mayor parte de los datos de acidez de distribuyen entre 2.89 y 4.69°D.

Por último, la distribución de los valores de acidez de las 1 721 muestras de leche madura está entre 2.61 y 4.23°D, con un promedio de 3.42°D y una desviación estándar de 0.81.

Los resultados de las distribuciones de acidez de los tres tipos de leche se muestran en la tabla 1.

Según el V Congreso Español de Lactancia Materna, realizado en Murcia, en el año 2009, la leche materna de óptima calidad es aquella recién donada cuya acidez varía entre 1 y 4°D, pues es una leche que está prácticamente libre de ácido láctico y ácidos grasos libres ⁽³⁾. El presente estudio detectó que el 75% del calostro, el 54% de la leche de transición y el 75% de la leche madura mostraban una acidez menor a 4°D. El 26% de todas las muestras mostraron acidez mayor a 4°D, pero siempre por debajo de 8°D, por lo que el 100% de las muestras analizadas fueron aptas para consumo ⁽⁹⁾.

Estos resultados reflejan una buena calidad de la leche procesada, cuando se comparan con los resultados del estudio de Silva, en el que el 20% de la leche fue descalificada por tener acidez superior a 8°D y menos del 20% presentó acidez menor a 4°D ⁽¹⁰⁾. Cavalcante *et al* ⁽¹⁵⁾, en un estudio que utilizó 4 204 muestras, encontraron que el 77.2% tenía acidez menor a 4°D y el 7% mostró valores por encima de 8°D. En el 2008, Vásquez y colaboradores obtuvieron un rechazo de 10% de leche por tener acidez mayor a 8°D; y de la leche con acidez aceptable, el 72% evidenció una acidez igual o menor a 4°D ⁽¹⁶⁾. En ese mismo año, Martínez y colaboradores pasteurizaron 179 625 litros de leche y de esta el 64% tenía acidez menor a 4°D ⁽¹⁷⁾.

Adicional a lo anterior, se determinó que existe diferencia entre la leche colectada en el BLH y la domiciliar. El primer tipo de leche presentó una acidez promedio de 3.39 °D (desviación estándar de 0.71) y la obtenida por donación domiciliar 4.13 (desviación estándar de 1.10). A pesar de esta diferencia, ambos tipos de leche muestran valores de acidez aceptables.

La acidez titulable en °D refleja, directamente, el grado de contaminación bacteriana que posee la leche del BLH, por lo que se considera adecuada como control de calidad ⁽¹⁸⁾. Además, es importante conocer los valores de acidez, ya que la leche con acidez mayor que 8°D sufre una reducción en el valor energético y puede, adicionalmente, causar acidosis o alcalosis metabólica y enterocolitis necrotizante en neonatos ⁽¹⁵⁾, razón por la cual debe ser descartada.

Contenido energético

El apoyo nutricional es reconocido como uno de los principales pilares en el tratamiento de los recién nacidos, sobre todo de aquellos de muy bajo peso al nacer. Para hacer un uso adecuado de la leche humana procedente

Acidez	CALOSTRO		LECHE DE TRANSICIÓN		LECHE MADURA	
	N.º de muestras	%	N.º de muestras	%	N.º de muestras	%
1-1,9	3	5,77	-	-	3	0,17
2-2,9	8	15,38	9	8,26	253	14,7
3-3,9	28	53,85	50	45,87	1042	60,55
4-4,9	6	11,54	34	31,19	292	16,97
5-5,9	6	11,54	11	10,09	100	5,81
6-6,9	-	-	3	2,75	21	1,22
7-7,9	1	1,92	2	1,83	8	0,46
≥8	-	-	-	-	2	0,12
Total	52	100	109	100	1721	100

Tabla 1. Valores y distribución porcentual de la acidez (°D) del calostro, la leche de transición y la leche madura recolectados en el BLH. Junio 2011 a diciembre 2014. HCLVV, San Ramón.

del BLH es esencial conocer el valor calórico final ofrecido, para que se pueda garantizar el aumento de peso satisfactoriamente^(19,20). El valor calórico se calcula mediante el crematocrito; este se obtiene mediante un método sencillo y barato; fue descrito por Lucas *et al* en 1978; se ha encontrado una buena correlación entre el valor calórico de la leche y el crematocrito^(11,21).

La tabla 2 muestra los resultados del contenido energético y su distribución porcentual para los tres tipos de leche analizadas. Las muestras de calostro analizadas arrojaron un promedio de 757 kcal/l, con una desviación estándar de 185. Este valor resulta alto pues los estudios señalan que el valor promedio de kcal/l para el calostro es 580, menor que el de la leche madura, ya que tiene mayor cantidad de proteínas, vitaminas liposolubles (E, A, K), carotenos y algunos minerales como sodio y zinc, además, menor cantidad de lactosa y grasa^(22, 23). Almeida y Dórea⁽²⁴⁾ encontraron un promedio de 537 kcal/l; Silva⁽¹⁰⁾ obtuvo 610 kcal/l; Días *et al*⁽²⁵⁾ reportaron un promedio de 638 kcal/l y Saarela *et al*⁽²⁶⁾ observaron un promedio de 677 kcal/l. Todos los valores anteriores son menores al obtenido en este estudio.

superiores o similares a las nuestras: Viera *et al*⁽¹⁹⁾ obtuvo un valor promedio de 859 kcal/l, mientras que Saarela *et al*⁽²⁶⁾ y Días *et al*⁽²⁵⁾ observaron medias de 689.9 kcal/l y 690 kcal/l, respectivamente. En general, se considera que el contenido energético de la leche madura es alrededor de 700 kcal/l^(22, 23).

Los resultados muestran una gran variabilidad en el contenido calórico de la leche donada; esto permite la selección de la leche por administrar según las necesidades de cada paciente. Por lo anterior, es importante determinar el contenido energético de la leche materna de los BLH, con el fin de poder suministrar a cada receptor la leche que vaya a ayudar más en su correcta nutrición y para contribuir al mantenimiento de ésta como el alimento ideal.

Control de calidad bacteriológico

La leche humana es un excelente medio de cultivo para el desarrollo de microorganismos. Estos pueden llegar a ella a través de su manipulación y procesamiento. Para asegurar su inocuidad microbiológica, se aplica un

kcal/l	CALOSTRO		LECHE DE TRANSICIÓN		LECHE MADURA	
	N.º de muestras	%	N.º de muestras	%	N.º de muestras	%
200-299	-	-	-	-	3	0,17
300-399	-	-	-	-	108	6,28
400-499	4	7,69	6	5,50	203	11,80
500-599	7	13,46	9	8,26	310	18,01
600-699	10	19,23	24	22,02	353	20,51
700-799	15	28,85	24	22,02	376	21,85
800-899	7	13,46	20	18,35	219	12,73
900-999	1	1,92	14	12,84	84	4,88
≥1000	8	15,38	12	11,01	65	3,78
Total	52	100	109	100	1721	100

Tabla 2. Valores y distribución porcentual del contenido energético (kcal/l) del calostro, la leche de transición y la leche madura recolectados en el BLH. Junio 2011 a diciembre 2014. HCLVV, San Ramón

Para la leche de transición, se obtuvo un promedio de 782 kcal/l con una desviación de 166. Otros estudios han encontrado promedios menores en este tipo de leche: 664 kcal/l⁽²⁵⁾, 637 kcal/l⁽¹⁰⁾ y 521 kcal/l⁽²⁴⁾.

El promedio de kcal/l, para la leche madura, fue 678 con una desviación estándar de 166; esta media es mayor que la encontrada por Silva⁽¹⁰⁾ en el 2008, quien obtuvo una media de 658.5 kcal/l para leche madura; esta mayor que el trabajo de Almeida y Dórea⁽²⁴⁾ en 2006, donde la media fue 529 kcal/l. Otros trabajos observaron medias

tratamiento de pasteurización, el cual inactiva el 100% de las bacterias patógenas y el 90% de la flora saprófita, a través del binomio temperatura/tiempo (62.5°C por 30 minutos)⁽²⁷⁾.

En los BLH, luego de la pasteurización, por protocolo se realiza un control bacteriológico. De las muestras analizadas en este estudio, el 100% resultaron negativas. Este resultado coincide con el de Duran *et al*⁽²⁷⁾, quienes obtuvieron un 100% de negatividad en un estudio a 30 muestras. Sin embargo, Serafini *et al*⁽²⁸⁾, encontraron un

5.6% de muestras positivas luego de pasteurizar bajo las mismas condiciones.

Los resultados obtenidos demuestran que las condiciones bajo las cuales se pasteuriza la leche en el BLH del Hospital de San Ramón son apropiadas y permiten obtener productos seguros y de calidad.

Conclusiones

El 43% de rechazo de leche por suciedades, sobre todo de la leche donada desde el domicilio, indica que las medidas higiénicas sanitarias durante la extracción de la leche no están siendo suficientes para garantizar la calidad de esta.

El 100% de las muestras que pasan la selección (suciedades, olor, color) y llegan a la pasteurización tiene acidez menor que 8°D y por tanto son aptas para consumo. El 74% de las muestras puede ser catalogado como de óptima calidad ya que tiene acidez menor que 4°D.

El contenido energético de la leche donada varía desde 290kcal/l hasta valores encima de 1 000 kcal/l, lo que justifica la necesidad de determinar el contenido energético para ofrecer la leche adecuada que cumpla con los requerimientos de cada receptor.

El 100% de la leche, después de pasteurizar, fue negativa para la detección de coliformes, lo que garantiza la eficacia del proceso y la inocuidad del producto final.

El producto final ofrecido por el BLH del Hospital Carlos Luis Valverde Vega es LHP que se puede considerar de óptima calidad y extrema seguridad.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud [Sede web] OMS; 2015. Salud de la madre, el recién nacido, del niño y del adolescente: Estrategia Mundial para la Alimentación del Lactante y del Niño Pequeño. Obtenida el 22/12/2014, de http://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/newborn/nutrition/global/es/
2. García N.R, García O, Pallás C.R. (2012). Sobre Bancos de Leche Humana y Lactancia Materna. *An Pediatr (Barc)*, 76 (5), 247-249
3. Hernández Aguilar MT. (2009). Procesamiento de la leche humana desde el punto de vista de la calidad y la seguridad. En: Ponencias: V Congreso Español de Lactancia Materna. España: Comité nacional de la IHAM (pp. 76-83)
4. Eidelman A I, Schanler R J, Johnston M, Landers S., Noble L, Szucs K, Viehmann L. (2012). Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*, 129(3), e827-e841.
5. Organización de las Naciones Unidas para la Infancia UNICEF. (2015) Objetivos de desarrollo del milenio: reducir la

mortalidad infantil. Obtenido el 22/12/2014, de www.unicef.org/spanish/mdg/childmortality.html

6. Bertin E, Giuliani F, Occhi L, Coscia A., Tonetto P, Marchionni F, Fabris C. (2009). Benefits of donor human milk for preterm infants: current evidence. *Early hum dev*, 85(10), S9-S10.

7. Updegrave K. Necrotizing enterocolitis: the evidence for use of human milk in prevention and treatment. (2004). *J Hum Lact*, 20(3), 335-339.

8. Cepeda-de-Badaracco M. (2003). Lactancia Materna en la Era de la Información. Perú, Departamento de Puericultura y Pediatría Facultad de Medicina-Universidad de los Andes. Obtenido el 17/12/2014, de <http://biosalud.saber.ula.ve/lactancia/articulos/bancos.html>

9. Caja Costarricense de Seguro Social. (2008). Guías Técnicas para el funcionamiento de Bancos de Leche Humana. San José, Costa Rica. CCSS.

10. Silva F. (2008) Qualidade do leite materno em banco de Leite Humano: Aspectos bacteriológicos, físico-químicos e perfil de aminos bioactivas. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

11. Lucas A, Gibbs JAH, Lyster RLJ, Baum JD. (1978). Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br Med J*, 1(6119), 1018-1020.

12. Raposo de Mello D. (2008). Banco de Leite Humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. Brasil: Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

13. Menezes G, Lima-Cavalcanti L, Morais-Oliveira A, Costa-Pinto R, Steffen-Abdallah V. (2014). Evaluación de la recolección domiciliar realizada por un banco de leche humana de un hospital universitario de Brasil. *Salud Publica Mex*, 56 (3), 245-250

14. Mitsue, S. C. (2010). Perfil sócio-econômico e ambiental de doadoras de um Banco de Leite Humano no Vale do Paraíba, SP e a qualidade sanitária do leite ordenhado (Dissertação). Brasil: Departamento de Ciências Agrárias, Universidade de Taubaté

15. Cavalcante J, Telles F, Peixoto M, Rodrigues R. (2005). Uso da acidez titulável no controle de qualidade do leite humano ordenhado. *Cienc Tecnol Aliment*, 25(1), 103-108.

16. Vásquez S, Alonso C, Bergón E, Melgar A, Lopez M, Samaniego M et al. (2009). Correlación entre Crecimiento Bacteriano en la Leche Humana Donada y la Acidez Dornic. En: Comunicaciones Orales: V Congreso Español de Lactancia Materna. España: Comité nacional de la IHAM (p. 251)

17. Martínez M, Franco V, Duran M, Cabañes E, Magaz P, Labajo J. (2009). Acidez Dornic y Crematocrito para la Administración de Leche Donada a la Carta. En: Comunicaciones Orales: V Congreso Español de Lactancia Materna. España: Comité nacional de la IHAM (p. 250)

18. Torres De Freitas A, Durán Z, Rodríguez C. (2009). Acidez titulable como control de calidad para la leche humana. *Arch venez puer ped*, 72(3), 92-96.

19. Vieira A. A, Moreira M. E, Rocha A. D, Pimenta H. P, Lucena S. L. (2004). Análise do conteúdo energético do leite

humano administrado a recém-nascidos de muito baixo peso ao nascimento. *J Pediatr*, 80(6), 490-494.

20. Sacramento A. D. L., Carvalho M. D., Moreira M. E. L. (2004). Avaliação do conteúdo energético do leite humano administrado a recém-nascidos prematuros nas maternidades do município do Rio de Janeiro. *Rev Inst Ciên. Saúde*, 22(1), 31-36.

21. Vázquez-Román S, Alonso-Díaz C, García-Lara N R, Escuder-Vieco D, Pallás-Alonso C R. (2014). Medida por crematocrito del contenido calórico de la leche materna donada congelada. *An Pediatr (Barc)*, 81(3), 185-188

22. Shellhorn C, Valdés V. (2010). Manual de Lactancia Materna. Contenidos Técnicos para Profesionales de la Salud. 2ª ed. Chile: Ministerio de Salud de Chile

23. Casanueva E, Kaufer-Horwitz M, Pérez-Lizaur A, Arroyo P. (2008). Nutriología Médica. 3era ed. México: Editorial Médica Panamericana

24. Almeida S. G, Dórea J. G. (2006). Quality control of banked milk in Brasília, Brazil. *J Hum Lact*, 22(3), 335-339.

25. Días C, Vásquez S, Caserio S, López M, Moral M, Bergon E et al. (2009). Espectro Calórico de la Leche Humana Donada al Banco de Leche del Hospital 12 de Octubre. En: Comunicaciones Póster: V Congreso Español de Lactancia Materna. España: Comité nacional de la IHAM (p.295)

26. Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. (2005). Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Acta Paediatrica*, 94(9), 1176-1181.

27. Duran Z, Guevara A, Rodríguez C, Carreño Carmona L, Alcoba R, Lourdes V. (2008). Calidad microbiológica de la leche humana procesada en el banco de leche materna: Hospital Ruiz y Páez: Ciudad Bolívar. *Arch venez puer ped*, 71(1), 5-12.

28. Serafini A. B, André M. C. D, Rodrigues M. A, Kipnis A, Carvalho C. O, Campos M. R. H, Jubé, T. F. (2003). Qualidade microbiológica de leite humano obtido em banco de leite. *Rev Saúde Pública*, 37(6), 775-9. 



AVISOS DEL COLEGIO

Nuevas cuotas de colegiatura y de laboratorios a partir de enero de 2015.

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.

A partir de enero del 2015, las cuotas quedan así: Colegiatura **₡12.200** Laboratorio **₡6.100** Técnicos **₡2.000**

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 2225-5138.8 

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. 

Troponina: biomarcador de elección para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio

Carlos Carvajal-Carvajal¹

Resumen:

El infarto agudo de miocardio se define por la presencia de necrosis miocárdica en combinación con evidencia clínica de isquemia del miocardio. Su diagnóstico requiere de la elevación o disminución de biomarcadores cardíacos (preferiblemente troponina) en, al menos, un valor superior al límite de referencia del percentil 99 de una población sana. La troponina es altamente específica de necrosis miocárdica, sin aportar el origen de la causa de la muerte del miocardiocito. El ensayo de alta sensibilidad para la troponina cardíaca tiene mayor sensibilidad, pero menor especificidad que los ensayos convencionales y puede ser útil en el tamizaje de los pacientes.

Palabras clave: Biomarcadores cardíacos, infarto agudo de miocardio, diagnóstico salival.

Abstract:

Acute myocardial infarction (AMI) is defined by the presence of myocardial necrosis in combination with clinical evidence of myocardial ischemia. The diagnosis of acute myocardial infarction requires the rise and/or fall of cardiac biomarkers (preferably troponin) with at least one value above the 99th percentile of the upper reference limit in a healthy population. Even though troponin is highly specific for myocardial necrosis, it provides no information on the etiology of myocyte death. The high-sensitivity assay for cardiac troponin has higher sensitivity but lower specificity than the conventional assays and, thus, may be useful in triaging patients.

Key words: Cardiac biomarkers, myocardial infarction, salivary diagnosis.

Introducción

El infarto agudo de miocardio (IAM) es la principal causa de muerte en los países desarrollados ⁽¹⁾, por lo que es de vital importancia su diagnóstico temprano para proceder a implementar todas aquellas medidas clínicas que buscan preservar la función cardíaca. Los biomarcadores de daño cardíaco, y especialmente la troponina, han venido a revolucionar el diagnóstico del IAM y el manejo de los pacientes que han sufrido este evento. Ante este panorama, es imperativo conocer más a fondo la determinación de troponina, sus ventajas y sus limitaciones como biomarcador de daño cardíaco y del IAM; este es el propósito de este trabajo.

Infarto de miocardio

El IAM se define como la muerte de células miocárdicas debido a isquemia prolongada. En el *Documento de Consenso de Expertos* del año 2013 ⁽²⁾, se incluyen los

cinco tipos de IAM. El tipo 1 es el más frecuente y es causado por la ruptura, erosión, ulceración, fisura o disección de una placa ateromatosa, con el resultado de la formación de un trombo intraluminal. Los tipos 2, 4 y 5 tienen su origen en causas diferentes a la presencia de un ateroma. El tipo 3 es causado, presumiblemente, por un evento ateromatoso, como el tipo 1, pero la muerte sobreviene antes de poder obtener una muestra sanguínea y no se dispone por ende de biomarcadores para este tipo de IAM.

Para el diagnóstico del IAM se requiere la detección de una elevación o disminución del biomarcador (preferiblemente troponina) con al menos un valor que supera el percentil 99 de la población normal de referencia (límite superior de referencia). El percentil 99 debe ser medible con un coeficiente de variación del 10% o menor. Además, se necesita al menos uno de los siguientes hallazgos: síntomas de isquemia, cambios del electrocardiograma indicativos de isquemia

Artículo recibido el 23/03/2015 / Aceptado para su publicación el 25/05/2015.

1. Laboratorio Clínico, Hospital de Guápiles, CCSS.

Correspondencia: ccarvajal313@yahoo.com

activa, identificación de un trombo intracardíaco por angiografía o mediante la autopsia o evidencia, mediante imágenes, de pérdida reciente de miocardio viable o de una anomalía reciente en el movimiento de la pared ^(1, 3, 4).

La elevación o disminución (cambio dinámico) en las medidas seriadas de la troponina (Tn) es esencial para el diagnóstico de IAM; esto por la presencia de valores crónicamente aumentados de Tn en situaciones de ausencia de isquemia y de IAM; se tienen las siguientes causas: anemia grave, hipertensión, miocarditis, insuficiencia cardíaca, hemodiálisis, insuficiencia renal, asma severa, sepsis, ejercicio extenuante, arritmias, cirugía cardíaca, embolismo pulmonar y otras condiciones ⁽⁵⁻⁸⁾. Por ejemplo, Artunc y colaboradores, en un estudio mostraron que los pacientes con falla renal terminal tienen concentraciones de Tn por encima del percentil 99. Ante este nivel basal elevado de Tn, la única forma de diagnosticar el IAM es demostrando una elevación o disminución dinámica del biomarcador entre varias muestras consecutivas a diferente tiempo ⁽⁸⁾.

Algunos investigadores proponen que ante mediciones consecutivas de la Tn se calcule la diferencia relativa (porcentaje) entre las mismas, mientras que otros abogan, más bien, por la diferencia absoluta ^(9, 10). El cálculo de la diferencia entre dos mediciones mejora la especificidad de la Tn para discernir el IAM. Sin embargo, debe indicarse que la diferencia relativa es dependiente del tiempo de la toma de las muestras, lo que complica su interpretación y por eso algunos investigadores se inclinan por utilizar la diferencia absoluta ⁽¹⁾.

La sensibilidad de la prueba de Tn mejora con el tiempo y se aproxima al 100% entre las 6 y las 12 horas de admisión. El valor predictivo positivo también se incrementa con el tiempo. No obstante, la especificidad no varía significativamente con el tiempo ⁽¹¹⁾.

Debe quedar claro que la Tn es un marcador específico de daño o de necrosis miocárdica y no precisamente de IAM. El daño o lesión miocárdica se define como una elevación sanguínea de biomarcadores sensibles y específicos (Tn, CK-MB). La lesión miocárdica ocurre en cualquier situación de daño a las células miocárdicas y no solo por isquemia y se le encuentra en la insuficiencia cardíaca, miocarditis, arritmias, embolia pulmonar, insuficiencia renal o procedimientos quirúrgicos coronarios o percutáneos sin incidentes ⁽⁵⁻⁸⁾. En todos estos casos se detecta un aumento de Tn o CK-MB y ninguno se debe calificar de IAM, pues la necrosis miocárdica no es de origen isquémico.

Se han propuesto diferentes mecanismos para explicar la liberación de Tn en diversas situaciones, en ausencia

de isquemia: apoptosis, liberación celular de productos proteolíticos, permeabilidad celular incrementada con estrés y liberación de vesículas de membrana -llamados *blebs*-, que llevan y liberan Tn ^(9, 12, 13). En muchos casos, esta liberación corresponde a cantidades minúsculas de Tn y explicaría la elevación de bajo nivel detectada solamente con el ensayo de Tn de alta sensibilidad.

Troponina

La troponina es un complejo proteico esencial para el proceso de contracción y relajación muscular. Está formada por tres subunidades designadas como TnT, TnI y TnC. Las tres subunidades son codificadas por genes separados. Cada gen tiene isoformas específicas de tejido. El miocardio cuenta con sus propias isoformas de TnT y TnI diferentes a las de otras células musculares y esta exclusividad hace a estas dos subunidades tan especiales como biomarcadores cardíacos ⁽¹⁴⁾. La mayoría de la Tn está estructuralmente asociada a las miofibrillas, sin embargo, aproximadamente, el 7% de la TnT y el 3%-5% de la TnI se hallan libre en el citosol de los miocardiocitos ⁽⁴⁾. Después de ocurrir un daño hay una elevación bifásica en la Tn sérica que corresponde a una liberación inicial de la Tn citoplásmica libre, seguida de una liberación gradual de la Tn unida a la miofibrilla ⁽¹¹⁾. La Tn puede ser detectada de 2 a 4 horas después del inicio del daño miocárdico; por eso se recomienda la toma de muestras a la presentación y luego entre 8 y 12 horas del inicio de los síntomas o entre 6 y 9 horas después de la admisión ⁽¹⁵⁾.

Es importante enfatizar que debe distinguirse entre las elevaciones de troponina debido a IAM de aquellas ocasionadas por condiciones crónicas. Para ello se necesita la demostración de un patrón que sube o baja para distinguir las elevaciones agudas de las crónicas de Tn ⁽²⁾. Entonces, para establecer el diagnóstico de IAM, se necesita un aumento o reducción de los valores de Tn con al menos un valor por encima del umbral de decisión (percentil 99) y todo dentro de un contexto de isquemia. Un valor elevado, sin un patrón dinámico o en ausencia de isquemia, excluye el IAM y puede orientar el diagnóstico hacia un problema crónico.

Otro problema en la determinación de la troponina es la existencia en el mercado de diversos ensayos de TnI con una gran variabilidad en la sensibilidad entre ellos. Estas diferencias en la sensibilidad se deben a la heterogeneidad de anticuerpos utilizados y a los componentes de la matriz de cada ensayo. Hay también en el plasma diversos fragmentos de Tn y los anticuerpos utilizados en los ensayos los detectan diferencialmente ⁽⁴⁾. Además, cada ensayo tiene su propio valor umbral no comparable a los de los demás ensayos. Todo lo anterior impide la comparación entre ensayos y frecuentemente entre centros médicos. Para TnT los ensayos son

producidos por una sola casa fabricante haciendo posible la comparación de resultados.

Un último problema concierne a la misma definición del valor umbral de decisión que corresponde al percentil 99 de una población de referencia. Para la escogencia de la población de referencia no hay consenso y con diferentes poblaciones se obtienen diferentes valores umbral (percentil 99) para un mismo ensayo ⁽⁹⁾.

Troponina de alta sensibilidad

Los ensayos de troponina de alta sensibilidad (Tnas) detectan concentraciones hasta diez veces más bajas de troponina que los ensayos tradicionales ⁽¹⁰⁾. Estos ensayos tienen, entonces, la ventaja de una detección más rápida y más temprana del IAM; además, presentan una buena precisión en el percentil 99% de la población ⁽⁹⁾. Todo esto permite que la terapia se inicie más tempranamente.

Con los ensayos tradicionales, la sensibilidad de la TnT al tiempo de la admisión va desde 25% a 65% y se incrementa a 59% a 90% entre las 2 y las 6 horas después de la admisión. La sensibilidad llega al 100% entre las 6 y las 12 horas de la admisión ⁽¹¹⁾. Con la Tnas aumenta la sensibilidad y se acortan los tiempos de toma de la muestra. Por ejemplo, Aldous y colegas reportan una sensibilidad de la Tnas de 88.3% al tiempo de la admisión que se incrementaba a 92.2% dos horas después ⁽¹⁵⁾.

No obstante, debe recordarse que los ensayos de troponina son específicos para detectar necrosis miocárdica y no lo son para la causa de esa necrosis. De ese modo la detección de concentraciones menores de Tn trae aparejado el problema de discernir si esa elevación de la troponina corresponde a un IAM. La mayor sensibilidad del ensayo de Tnas se contrarresta con una menor especificidad, ocasionando un aumento de los falsos positivos, y obliga al médico a una mejor investigación clínica de cada paciente con un valor elevado de troponina. Es particularmente importante la investigación de valores elevados de troponina que no superan el valor umbral, pero que son valores mayores que la media poblacional ⁽¹⁶⁾. Estos valores poco elevados no deben ser ignorados.

El principal desafío de estos ensayos de alta sensibilidad es evitar el sobrediagnóstico de IAM a causa del aumento de la sensibilidad y la menor especificidad. Actualmente, existe también la Tn supersensible que obliga a tener más cuidado al momento de interpretar valores aumentados de Tn ⁽¹⁷⁾.

Troponina en saliva

Otra alternativa para el diagnóstico del IAM es la medición de Tn en saliva. La saliva está compuesta

principalmente de agua, electrolitos y moléculas orgánicas, además, se encuentran componentes séricos derivados primariamente de la vasculatura local que se origina de las arterias carótidas ⁽¹⁸⁾. Muchos biomarcadores séricos asociados con la inflamación, la aterosclerosis, la estabilidad de la placa y el daño miocárdico se encuentran en la saliva ^(19, 20).

En un estudio llevado a cabo por Mirzaii-Dizgah y Riahi se encontraron niveles aumentados de TnI en saliva en pacientes que habían sufrido un IAM, comparados con los niveles salivales en reposo ⁽²¹⁾. En otro estudio, Foley y colegas, simulando un IAM en un grupo de pacientes, encontraron que los marcadores de necrosis miocárdica (TnI, CK-MB y mioglobina) se elevaban, tanto en suero como en saliva, posterior al infarto, aunque la elevación era menor en saliva ⁽¹⁹⁾. El pico o máximo nivel de TnI se alcanzó entre las 16 y las 24 horas en suero, en cambio en saliva se alcanzó posterior a las 48 horas; aunque entre las 24 y las 48 horas ya se notaba una elevación significativa. En otro estudio, nuevamente Foley y colegas, lograron demostrar que varios biomarcadores (incluidos CK-MB, mioglobina y TnI) presentaban elevaciones en sus niveles salivales a través del tiempo cuando eran cuantificados a diferentes momentos (0, 8, 16, 24 y 48 horas postinfarto) ⁽²²⁾.

A pesar de las ventajas que pueda tener la saliva como muestra (procedimiento rápido, no invasivo, fácil de realizar por personal mínimamente entrenado y menor riesgo de contaminación para el personal) tiene también varias desventajas (las proteínas tienen una vida media corta y el fluido de la cavidad oral hace que las proteínas salivales sean vulnerables a la degradación) ⁽²³⁾. Para evitar la degradación proteica en los estudios de Foley y colegas, la saliva fue recogida en tubos estériles que contenían un inhibidor de proteasas ^(19, 22). Otro aspecto por considerar, con el uso de la saliva, es que la muestra indicada es la saliva total, sin estimulación, obtenida en forma espontánea; pues la saliva obtenida por estimulación no es adecuada porque se estimula la fase acuosa de la saliva, resultando en una dilución de las proteínas de interés ⁽¹⁸⁾. Otra consideración a tener en cuenta es el hecho de que la TnI se halla en menor concentración en la saliva que en el suero y las elevaciones correspondientes, tras un infarto al miocardio, son menores también en la saliva, lo que obliga a utilizar sistemas de detección más sensibles cuando se realiza la prueba en saliva. El problema no es encontrar analizadores con metodologías suficientemente sensibles -porque sí los hay-, el problema es el costo económico por prueba cuando se utilizan tecnologías de alta sensibilidad. Este es un aspecto que siempre es central a las finanzas del sector salud.

Además, para poder utilizar saliva en vez de sangre como muestra, deben determinarse, primero, los valores normales de TnI y de otros biomarcadores de daño

miocárdico, a nivel poblacional para poder establecer con certeza el valor umbral (percentil 99). Cualquier concentración por encima de este valor daría una indicación clara de un daño miocárdico, que en un contexto de isquemia indicaría IAM.

Una variante que usa también saliva como muestra es la utilización de nano chips que permitirían la medición simultánea de varios biomarcadores como una alternativa para aumentar la sensibilidad y la especificidad de la medición. El uso de estos dispositivos permite volúmenes mínimos de saliva (100-300 µl), elimina la necesidad de reactivos externos, reduce el riesgo de goteo y de contaminación; además, la eliminación del chip es más sencilla y segura. Todo lo anterior reduciría el costo de la prueba y aumentaría la bioseguridad ⁽¹⁸⁾.

A pesar de todos los inconvenientes y de toda la información básica que debe obtenerse, el uso de la saliva como una alternativa a la sangre (suero o plasma) posiblemente continuará, al igual que la investigación sobre su aplicabilidad.

Conclusiones

El biomarcador preferido para el diagnóstico del IAM es la troponina. No obstante, debe tenerse presente que esta proteína es un marcador de daño miocárdico y no precisamente de IAM. Por esta razón, cualquier medición de este biomarcador debe hacerse dentro de un contexto de isquemia miocárdica.

No basta detectar un solo valor significativamente elevado de Tn, sino que deben realizarse como mínimo dos determinaciones y demostrar un cambio dinámico de concentración en este biomarcador. Además, este cambio dinámico debe ocurrir en un contexto de isquemia miocárdica.

Con el afán de lograr un diagnóstico más temprano, surge la determinación de Tn de alta sensibilidad; no obstante, trae aparejado el problema de una pérdida de especificidad a costa de un aumento de la sensibilidad.

La determinación de Tn en saliva constituye una nueva alternativa, pues presenta varias ventajas citadas anteriormente, pero todavía falta más investigaciones para asegurar su idoneidad en el diagnóstico de IAM.

Referencias

1. Christenson, E., Christenson, R. (2013). The role of cardiac biomarkers in the diagnosis and management of patients presenting with suspected acute coronary syndrome. *Ann Lab Med*, 33, 309-318.

2. Thygesen, K., Alpert, J., Jaffe, A., Simoons, M., Chaitman, B. *et al.* Documento de consenso de expertos. Tercera definición universal del infarto de miocardio. *Rev Esp Cardiol*, 66(2), e1-e15.

3. Mills, N., Lee, K.K., McAllister, D., Churchhouse, A., MacLeod, M. *et al.* (2012). Implications of lowering threshold of plasma troponin concentration of myocardial infarction: cohort study. *BMJ*, 344, 1-11.

4. Balbain, L., Jaffe, A., (2005). Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *CMAJ*, 173(10), 1190-1202.

5. McFalls, E., Larsen, G., Johnson, G., Apple, F., Goldman, S. *et al.* (2011). Long-term of hospitalized with a non-acute coronary syndrome diagnosis and an elevated cardiac troponin level. *Am J Med*, 124(7), 630-635.

6. Stahli, B., Yonekawa, K., Altwegg, L., Wyss, C., Hof, D. *et al.* (2014, Junio). Clinical criteria replenish high-sensitive troponin and inflammatory markers in the stratification of patients with suspected acute coronary syndrome. *PLOS ONE*, 9(6), 1-14. Obtenida el 06/03/2015 de <http://www.zora.uzh.ch/96580/1/ClinicalCriteriaReplenishTroponin-MH.pdf>

7. Hanlon, R., Wilson, M., Wage, R., Smith, G.D., Alpendurada, F. *et al.* (2010). Troponin release following endurance exercise: is inflammation the cause? A cardiovascular magnetic resonance study. *J Cardiovascular Magnetic Resonance*, 12, 1-7.

8. Artunc, F., Mueller, C., Breidhardt, T., Twerenbold, R., Peter, A. *et al.* (2012, Octubre 15) Sensitive troponins – which suit better for hemodialysis patients? Associated factors and prediction of mortality. *PLOS ONE* 2012; 7(10): 1-10. Obtenida el 06/03/2015 de

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3471860/>

9. Sherwood, M., Newby, K., (2014, Enero 27) High-sensitivity troponin assays: evidence, indications, and reasonable use. *J Am Heart Assoc*, obtenida el 06/03/2015 de <http://jaha.ahajournals.org/content/3/1/e000403.full.pdf+html>

10. Al-Saleh, A., Alazzoni, A., Al-Shalash, S., Ye, M., Mbuagbaw, L. *et al.* (2014, Performance of high-sensitivity troponin assay in diagnosing acute myocardial infarction: systematic review and meta-analysis. *CMAJ*, obtenida el 06/03/2015 de <http://www.cmajopen.ca/content/2/3/E199.full.pdf>

11. Daubert, M., Jeremias, A., (2010). The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. *Vascular Health and Risk Management*, 6, 691-699.

12. Konishi, M., Sugiyama, S., Sugamura, K., Nozaki, T., Ohba, K. *et al.* (2013, Abril 2) Basal and ischemia-induced transcardiac troponin release into the coronary circulation in patients with suspected coronary artery disease. *PLOS ONE* 2013; 8(4): 1-8. Obtenida el 06/03/2015 de

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3615044/pdf/pone.0060163.pdf>

13. Oastermann, M., Lo, J., Toolan, M., Tuddenham, E., Sanderson, B. *et al.* (2014). A prospective study of the impact of serial troponin measurements on the diagnosis of myocardial

infarction and hospital and six-month mortality in patients admitted to ICU with non-cardiac diagnoses. *Critical*, 18, 1-9.

14. Sheng, J-J., Jin, J-P. (2014). Gene regulation, alternative splicing, and posttranslational modification of troponin subunits in cardiac development and adaptation: a focused review. *Frontiers of physiology*, 5, 1-16.

15. Aldous, S., Richards, M., Cullen, L., Troughton, R., Than, M. (2012, Marzo 20). Diagnostic and prognostic utility of early measurement with high-sensitivity troponin T assay in patients presenting with chest pain. *CMAJ* 2012; 184(5): E260-E268. Obtenida el 06/03/2015 de <http://www.cmaj.ca/content/184/5/E260>

16. Pierpont, G., McFalls, E. (2009). Interpreting troponin elevations: do we need multiple diagnoses? *European Heart J*, 30, 135-138.

17. Neumann, J. T., Havulinna, A., Zeller, T., Appelbaum, S., Kunas, T. *et al.* (2014). Comparison of three troponins as predictors of future cardiovascular events- prospective results from the FINRISK and BiomaCARE Studies. *PLOS ONE* 2014; 9(3): 1-10. Obtenida el 06/03/2015 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3942371/pdf/pone.0090063.pdf>

18. Miller, C.S., Foley, J.D., Bailey, A.L., Campbell, C.L., Humphries, R.L. *et al.* (2010). Current development in salivary diagnostics. *Biomark Med*, 4(1), 171-189.

19. Foley, J.D., Sneed, J.D., Steinhubl, S.R., Kolasa, J.R., Ebersole, J.L. *et al.* (2012). Salivary biomarkers associated with myocardial necrosis: results from an alcohol septal ablation model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 114(5), 616-623.

20. Abdul Rahim, M.A., Abdul Rahim, Z.H., Wan Ahmad, W.A., Hashim, O.H. (2015). Can saliva proteins be used to predict the onset of acute myocardial infarction among high-risk patients? *Int J Med Sciences*, 12, 329-336.

21. Mirzaii-Dizgah, I., Riahi, E. (2013). Salivary troponin I as an indicator of myocardial infarction. *Indian J Med Research*, 138(6), 861-865.

22. Foley, J.D., Sneed, J.D., Steinhubl, S.R., Kolasa, J.R., Ebersole, J.L. *et al.* Oral fluids that detect cardiovascular disease biomarkers. (2012). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 114(2), 207-214.

23. Bonne, N., Wong, D.T.W. (2012). Salivary biomarker development using genomic, proteomic and metabolic approaches. *Genome Medicine*, 4, 1-12. 



TecnologíaCR

Sistema de Gestión de Laboratorios en la Nube

· Servicios de Hosting y Diseño Web

Tels.: 2245-0616 / 8871-2538 · www.tecnologiacr.com

Aislamiento de *Sphingomonas paucimobilis* de herida quirúrgica contaminada

Jorge Mauricio Montero-García¹

Resumen:

Sphingomonas paucimobilis es un bacilo gram negativo, móvil, aerobio, no fermentador que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y en ambientes hospitalarios, por lo que puede ocasionar infecciones nosocomiales principalmente en pacientes inmunosupresos o con alguna enfermedad de fondo. A continuación se describe un caso de una paciente con herida quirúrgica contaminada, de la cual se aisló esta bacteria cinco días después de su egreso del hospital. La paciente recibió tratamiento con antibióticos de amplio espectro y se egresó en buen estado, sin presentar complicaciones posteriores. Se debe considerar esta bacteria como un potencial agente de infecciones nosocomiales.

Palabras clave: Infección nosocomial, patógeno oportunista.

Abstract:

Sphingomonas paucimobilis is a Gram-negative, mobile, aerobic and non-fermenter bacillus that is widely distributed in nature and in the hospital environment, where it can cause infection mainly in patients who are immunocompromised or who have a predisposing disease. The present article describes the case of a female patient who presented a contaminated surgical wound from which the mentioned bacteria was isolated five days after her release from the hospital. The patient received treatment with broad spectrum antibiotics and was released in a good condition, without any further complications. This bacterium must be considered as a potential causal agent of nosocomial infections.

Key words: Nosocomial infection, opportunistic pathogen.

Introducción

Pseudomonas paucimobilis fue descrita en casos humanos en 1977. Posteriormente, en 1990, fue renombrada como *Sphingomonas paucimobilis* ⁽¹⁾. Esta bacteria forma parte del género *Sphingomonas* y pertenece a la familia *Sphingomodaceae*; esta es la única especie descrita en infecciones humanas ⁽²⁾. El género *Sphingomonas* incluye trece especies de bacilos gram negativos no fermentadores, aerobios estrictos, oxidasa y catalasa positivos ⁽²⁾. Posee un flagelo polar con baja movilidad, de ahí deriva el nombre *paucimobilis* ⁽³⁾. Crece en medios de cultivo como tioglicolato, tripticasa soya y agar sangre. En agar sangre, las colonias son planas, de forma irregular y con aspecto acuoso. No crece en agar Mac Conkey ⁽²⁾.

Presentación del caso clínico

Se presenta el caso de una paciente femenina de 43 años de edad, con cinco embarazos y un aborto, hipertensa y diabética. No tiene antecedentes de alcoholismo ni tabaquismo, sin enfermedades inmunológicas ni hematológicas. En la consulta de ginecología se diagnostica con hipertrofia y fibromatosis uterina; es hospitalizada para ser sometida a una histerectomía abdominal. Posterior a la cirugía, la paciente se muestra normotensa, estable, con frecuencia respiratoria de 16 respiraciones por minuto y frecuencia cardíaca de 92 latidos por minuto, presión arterial de 130/60 mmHg y temperatura de 36.5°C. Se egresa 2 días después en condiciones estables y con la herida quirúrgica sana. Se le brindan indicaciones de cuidado de la herida.

Artículo recibido el 20/04/2015 / Aceptado para su publicación el 24/05/2015.

1. Laboratorio Clínico, Hospital Los Chiles, CCSS.

Correspondencia: mont26@hotmail.com

Cuatro días después de la salida del centro hospitalario, acude al servicio de urgencias por fiebre de tres días de evolución. Al examen físico presenta taquicardia, temperatura de 37.4°C, eritema en la herida quirúrgica, calor local, induración y secreción seropurulenta. Se solicitan hemograma, pruebas de función renal, frotis y cultivo de la secreción abdominal. En el primer hemograma se observan índices hematimétricos normales y una leucocitosis de 15 730 leucocitos/mm³ con un 81% de neutrófilos; la química sanguínea muestra una creatinina en 1.82 mg/dl, nitrógeno ureico en 21.1 mg/dl y glicemia en 140 mg/dl en ayunas. A los dos días del internamiento, la leucocitosis asciende a 20 200 leucocitos/mm³ con un 80% de neutrófilos, creatinina en 0.78 mg/dl y nitrógeno ureico en 17 mg/dl.

En el frotis de la secreción se observan abundantes leucocitos polimorfonucleares y muchos bacilos gram negativos. La secreción se inoculó en agar sangre, agar manitol sal, agar Mac Conkey, y tioglicolato. Después de 48 horas de incubación a 37°C, no hubo crecimiento en agar Mac Conkey, mientras que en agar sangre se obtuvieron colonias pequeñas con aspecto acuoso; en la tinción de Gram se observaron bacilos gram negativos. El aislamiento fue identificado como *Sphingomonas paucimobilis* por el equipo Vitek 2 (bioMérieux, Francia); sin embargo, el equipo no logró realizar la prueba de sensibilidad por lo que no se pudo obtener el antibiograma. Se informa al Servicio de Ginecología el resultado de los exámenes para que se continúe la terapia farmacológica que incluye: clindamicina, oxaciclina y gentamicina; además, que se le brinde cobertura de amplio espectro.

Con el tratamiento, la paciente se mantuvo sin fiebre y normotensa; la secreción de la herida quirúrgica disminuyó; se le dio salida siete días posterior al reingreso.

Discusión

Sphingomonas paucimobilis se encuentra distribuida ampliamente, tanto en ambientes naturales como el agua y el polvo, así como en ambientes nosocomiales. Es posible encontrarla en sistemas de agua en los hospitales^(3,4), equipos de terapia respiratoria e instrumentos de laboratorio⁽⁵⁾; además, se puede encontrar en manos contaminadas del personal hospitalario⁽⁶⁾. Esto último es una de las principales causas de infección del paciente⁽⁴⁾, lo que origina un serio problema en el ámbito clínico.

A pesar de que es un patógeno oportunista que se aprovecha de las condiciones debilitadas del paciente y enfermedades adyacentes, las infecciones por

Sphingomonas paucimobilis rara vez son graves o potencialmente mortales⁽⁷⁾.

Esta bacteria parece ser un patógeno con potencial limitado y podría explicarse por la falta de lipopolisacárido A que se sustituye por glicoesfingolípidos, los cuales son 105 veces menos activos que el primero, en cuanto a la inducción de la liberación del factor de necrosis tumoral α , la interleucina-6, y la interleucina-1 por células mononucleares⁽⁸⁾.

Las infecciones causadas por esta bacteria incluyen bacteriemias causadas por soluciones contaminadas, por ejemplo, agua destilada, el fluido de hemodiálisis y soluciones de fármacos estériles⁽⁴⁾. Existen casos reportados de pacientes con sepsis debido al uso de Fentanyl intravenoso contaminado con esta bacteria⁽⁹⁾. Otros tipos de infecciones reportados incluyen casos de osteomielitis, artritis séptica, endoftalmítis postoperatoria, peritonitis, meningitis, infecciones cutáneas, abscesos viscerales, adenitis, sepsis relacionadas a catéter, infecciones urinarias y diarreas^(3, 7, 5, 8, 10); sin embargo, no se han reportado fallecimientos por esta bacteria⁽⁴⁾.

Este microorganismo, usualmente, es susceptible a tetraciclinas, cloranfenicol, aminoglicósidos, trimetropin con sulfa, carbapenem, imipenem, quinolonas, amikacina y cefotaxime. Se han encontrado cepas resistentes a penicilinas y cefalosporinas de primera generación^(2, 11).

La importancia de esta bacteria radica en el hecho de ser un microorganismo que se encuentra tanto en ambientes naturales como nosocomiales, que afecta principalmente a pacientes inmunosupresos y con enfermedades de fondo. No obstante, aunque las infecciones por *Sphingomonas paucimobilis* son raras, debe tomarse en cuenta como un potencial agente infeccioso y no, solamente, como un posible contaminante, lo cual ocasionaría un subregistro de infecciones nosocomiales.

Referencias

1. Mehmet, O., Sevgi, P., Mehmet, E., Fatma, E., Bahadir, F., Serife, P., Mahmut, B. (2011). A rare cause of bacteremia in a pediatric patient with Down Syndrome: *Sphingomonas paucimobilis*. *International Journal of Medical Sciences*, 8(7), 537-539
2. Martinez, M., Ovalle, A. (2013). *Sphingomonas paucimobilis*. *Revista Chilena Infectología*, 30(1), 49-50
3. Hsueh, P., Teng, L., Yang, P., Chen, Y., Pan, H., Ho, S., Luh, K. (1998). Nosocomial infections caused by *Sphingomonas*

paucimobilis: clinical features and microbiological characteristics. *Clinical Infections Diseases*, 26, 676-681.

4. Ryan, M., Adley, C. (2010). *Sphingomonas paucimobilis*: a persistent Gram-negative nosocomial infectious organism. *Journal of Hospital Infection*, 75(3), 153-157.

5. Pascale, R., Russo, E., Esposito, I., Leone, S., Esposito, S. (2013). *Sphingomonas paucimobilis* osteomyelitis in an immunocompetent patient. A rare case report and literature review. *The New Microbiologica*, 4, 423-426.

6. Kilic, A., Senses, Z., Kurekci, A., Aydogan, A., Sener, A., Kismet, E., Baustaoglu, A. (2009). *Sphingomonas paucimobilis* bacteraemia and septic arthritis in a diabetic patient presenting with septic pulmonary emboli. *Journal Medical Microbiology*, 58(9), 1259-1263.

7. Bulut, C., Yetkin, M., Koruk, S., Erdinc, F., Karakoc, E. (2008). A rare cause of nosocomial bacteremia: *Sphingomonas paucimobilis*. *Mikrobiyoloji bülteni*. 42(4), 685-688.

8. Seong, W., In, C., Eurie, K., Jong, M. (2008). A case of postoperative *Sphingomonas paucimobilis* endophthalmitis after cataract extraction. *Korean Journal Ophthalmology*, 22(1), 63-65.

9. Maragakis, L., Chaiwarith, R., Srinivasan, A., Torriani, F., Avdic, E., Lee, A., Ross, T., Carroll, K., Perl, T. (2009). *Sphingomonas paucimobilis* bloodstream infections associated with contaminated intravenous fentanyl. *Emerging Infectious Disease*, 15(1), 12-18.

10. Kuo, I., Lu, P., Lin, W., Lin, C., Chang, Y., Chen, T., Chen, Y. (2009). *Sphingomonas paucimobilis* bacteremia and septic arthritis in a diabetic patient presenting with septic pulmonary emboli. *Journal Medical Microbiology*, 58(9), 1259-1263.

11. Al-Anazi, A., Abu, J., Al-Jasser, A., Al-Shangeeti, A., Chaudri, N., Al Jurf M, Al-Mohareb, FI. (2008). Septic shock caused by *Sphingomonas paucimobilis* bacteremia in a patient with hematopoietic stem cell transplantation, *Transpl Infect Dis*, 10(2), 142-144. 

Carta al editor

Nuevo algoritmo diagnóstico para el virus de la inmunodeficiencia humana, según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades

Jorge Mauricio Montero-García¹

La pandemia del sida continúa extendiéndose sin control en muchas partes del mundo; se registran más de 34 millones de personas infectadas actualmente y 2.7 millones de nuevas infecciones anuales ⁽¹⁾.

Desde 1989, las recomendaciones para el algoritmo diagnóstico han comprendido el empleo en forma secuencial de un ensayo de tamizaje caracterizado por una alta sensibilidad, seguido por un ensayo confirmatorio de mayor especificidad en aquellas muestras reiteradamente reactivas. Dentro de este último grupo de ensayos, el western blot (WB) ha sido el más extensamente utilizado; para su interpretación, se cuenta con una serie de criterios ya establecidos ⁽²⁾.

Comparado con el WB, la detección de ácidos nucleicos (NAT, por sus siglas en inglés) puede detectar una infección por VIH-1 26 días antes, y el combo de cuarta generación (4G) antígeno/anticuerpo 20 días antes ⁽³⁾.

En un estudio retrospectivo de donantes de plasma, realizado en el año 2003 por Fiebig y colaboradores, se obtuvo como resultado que, de 435 muestras secuenciales de 51 donantes, 113 de estas fueron no reactivas en cada uno de los ensayos empleados para VIH-1, mientras que 322 muestras fueron reactivas en uno o más ensayos. A partir de estos resultados, los autores proponen una serie de 6 etapas de infección primaria del VIH-1, de acuerdo al patrón de reactividad del ensayo. Se obtiene como resultado que, desde la primera etapa, el ARN es detectable por PCR, mientras que el WB es reactivo a

1. Laboratorio Clínico, Hospital Los Chiles, CCSS.
Correspondencia: mont26@hotmail.com

partir de la quinta etapa, con una diferencia entre una y otra de 29 días⁽⁴⁾.

El WB y las técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFA) ya no forman parte del algoritmo recomendado para hacer un diagnóstico de infección de VIH-1; ya que según el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), la sensibilidad y especificidad de las pruebas actuales son mayores; además que el algoritmo anterior fallaba en la identificación de infecciones agudas por VIH⁽⁵⁾, momento en el cual, según modelos basados en estudios de cohorte, la tasa de transmisión es 26 veces más alta, y que a pesar de su corta duración puede ser la causa del 10 al 50% de las nuevas transmisiones de VIH-1^(6,7).

Algoritmo recomendado por el CDC

Debido a que el WB y el IFA usados para la confirmación son menos sensibles en infecciones tempranas de VIH, comparados con nuevas pruebas de tamizaje, se incrementan potencialmente los resultados negativos, indeterminados o inconclusos en algunos casos de personas infectadas con VIH⁽⁶⁾. Las guías publicadas desde 1989 se basaban en el serodiagnóstico de VIH-1, en 1992 se incluyó la determinación de VIH-2 y en el 2004 se incorporaron protocolos para la confirmación de pruebas rápidas para anticuerpos. Sin embargo estas guías solo empleaban pruebas para la determinación de anticuerpos. Las nuevas recomendaciones incluyen pruebas para determinar antígenos y ácidos nucleicos del VIH, debido a que estudios en población de alto riesgo para el VIH demostraron que determinar solamente anticuerpos podría generar la pérdida de un porcentaje considerable de infecciones de VIH detectables por pruebas virológicas⁽⁵⁾.

Las mejoras en los ensayos de VIH han llevado al CDC y a la Asociación de Laboratorios de Salud Pública de Estados Unidos a proponer cambios en el algoritmo de la prueba del VIH⁽³⁾. Estas mejoras en la sensibilidad de los inmunoensayos utilizados para el VIH-1 y 2, junto con las pruebas suplementarias, proporcionan un medio para identificar a los individuos en la fase aguda de una infección por VIH, así como infecciones establecidas⁽⁸⁾.

Las nuevas recomendaciones del CDC son necesarias debido a que:

1. La aprobación de la FDA de ensayos mejorados que permiten detectar una infección reciente con más prontitud comparada con los inmunoensayos anteriores.
2. Hay evidencia de que la determinación de WB o IFA para la confirmación de resultados de inmunoensayos

inicialmente positivos puede producir falsos negativos o resultados indeterminados en el curso de la infección.

3. Se sabe que el riesgo de transmisión es mayor en personas con infección aguda y temprana que en personas con la infección establecida.
4. Se obtienen beneficios clínicos por el tratamiento antiretroviral a todas las personas con infección del VIH, incluyendo los de infección aguda.
5. Se ha demostrado que la mayoría de infecciones de HIV-2 detectadas por los inmunoensayos disponibles eran mal clasificadas como HIV-1 por el WB⁽⁵⁾.

El CDC recomienda un nuevo algoritmo el cual ya ha sido evaluado y validado por el Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI, por sus siglas en inglés)⁽³⁾. En el algoritmo recomendado se debe realizar un inmunoensayo de cuarta generación que detecte anticuerpos contra VIH-1 y VIH-2, pero que además determine el antígeno p24, de manera que se pueda establecer una infección por VIH-1 o VIH-2, o una infección aguda por VIH-1. En caso de que el resultado sea reactivo podría realizarse una prueba para diferenciar anticuerpos contra VIH-1 y VIH-2. En los casos en los que no se puede determinar o diferenciar estos anticuerpos se recomienda realizar una prueba de detección de ácidos nucleicos del virus o carga viral. EL NAT permite discriminar una infección aguda por VIH-1, además, en casos de que el estudio por anticuerpos sea indeterminado, la realización de NAT indicaría indirectamente la presencia de anticuerpos en aquellos casos en los que no se puede determinar o diferenciar los anticuerpos contra VIH-1 y VIH-2, confirmados por la metodología de ácidos nucleicos en caso de ésta salir positiva. Los resultados de VIH-1 por NAT permiten distinguir una infección aguda de un falso positivo a partir del resultado inicial de un inmunoensayo (Ver figura 1)⁽⁵⁾.

Este algoritmo tiene el potencial de identificar a las personas infectadas recientemente con VIH-1, las cuales podrían haber sido reportadas como negativas o indeterminadas en casos donde hay seroconversión, mientras que el WB o el IFA podrían generar falsos negativos^(5,6). Algunas de las ventajas de este algoritmo con respecto al anterior son:

- Mayor exactitud en el diagnóstico de una infección aguda de VIH-1.
- Misma exactitud en el diagnóstico de una infección de VIH-1 establecida.

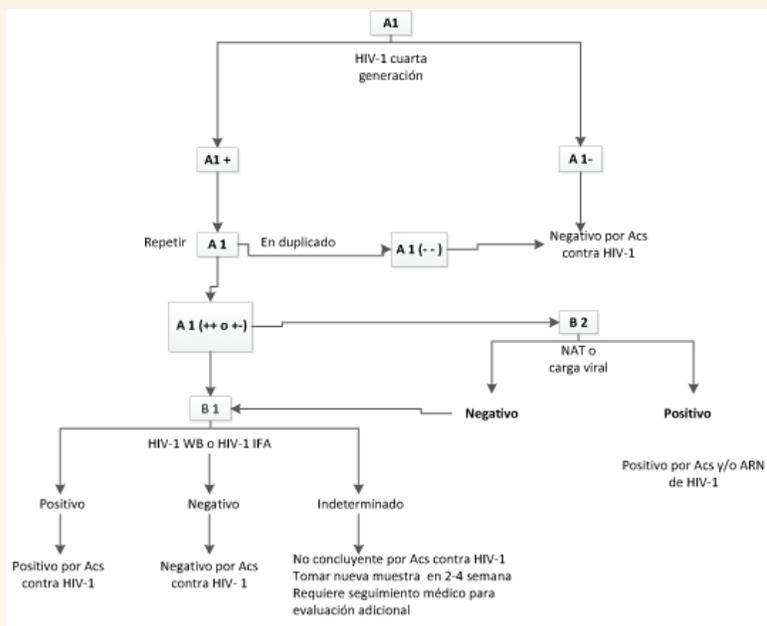


Figura 1. Algoritmo recomendado por el CDC para la prueba de VIH en suero o plasma para su interpretación, se cuenta con una serie de criterios ya establecidos⁽²⁾.

- Mayor exactitud en el diagnóstico de una infección de VIH-2.
- Menor cantidad de resultados indeterminados.
- Resultados más rápidos⁽⁵⁾.

El diagnóstico precoz del VIH, la vinculación y el compromiso en la atención son fundamentales para mejorar los resultados de salud personales. El inicio de la terapia antirretroviral, con la retención en la atención y el cumplimiento del tratamiento, pueden conducir a la supresión de la carga viral, a una disminución significativa en las tasas de transmisión del VIH y, finalmente, a una reducción en las tasas de incidencia del VIH⁽⁹⁾.

Conclusiones

El nuevo algoritmo tiene la ventaja de poseer una mayor exactitud y sensibilidad, lo cual abre la posibilidad de detectar una infección aguda mucho antes que con el algoritmo anterior. Esto nos permite una mayor detección y captación de nuevos casos positivos, lo cual es fundamental para tratar a aquellas personas que están infectadas; además, se podrían disminuir

las tasas de transmisión e incidencia y dar un tratamiento antirretroviral con anterioridad, y mejorar, de esta forma, la calidad de vida del paciente. Sin embargo, la implementación de nuevos algoritmos implica desafíos estructurales en lo referente a políticas y leyes que permitan aplicarlos y que estén al alcance de todos los ciudadanos de forma más expedita y permitan la obtención de los resultados de laboratorio lo antes posible con los beneficios anteriormente citados.

Referencias

1. Reeves, J. & Doms, R. (2002). Human Immunodeficiency virus type 2. *Journal of General Virology*, 83, 1253-65.
2. Bouzas, M. et al. (2013). Propuesta de nuevos algoritmos para el diagnóstico de VIH. Ministerio de Salud de Argentina, Dirección de SIDA y ETS, 5-14.
3. Hutchinson, A. et al. (2013). Cost and outcomes of laboratory diagnostic algorithms for the detection of HIV [version electrónica]. *Journal of Clinical Virology*, e3-e7. · DOI: 10.1016/j.jcv.2013.10.005
4. Fiebig, E. et al. (2003). Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS*, 17, 1871-1879.
5. Branson, B. et al. (2014). Laboratory testing for the diagnosis of HIV infections: Updated recommendations. Centers for Disease Control and Preventions, 5-20. Obtenido el 02/02/2015 de <http://www.cdc.gov/hiv/pdf/hivtestingalgorithmrecommendation-final.pdf>
6. Bennet, B. et al. (2009). HIV testing algorithms a status report. The association of Public Health Laboratories and Centers for Disease Control and Preventions, 5-40. Obtenido el 02/02/2015 de file:///C:/Users/Gabriel/Downloads/cdc_5696_DS1.pdf
7. Hollingsworth, T., Anderson, R. & Fraser C. (2008). HIV-1 transmission, by stage of infection. *Journal Infection Disease*. 198 (5), 687-93.
8. Bennet, B. et al. (2013). Performance of the new HIV-1/2 diagnostic algorithms in Florida's public health testing population: A review of the first five months of utilization [version electrónica]. *Journal of Clinical Virology*, e29-e33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2013.08.016>
9. Bennet, B. et al. (2013). HIV single staging algorithm: Integration and maximization of resources by reducing time between HIV diagnosis and treatment [version electrónica]. *Journal of Clinical Virology*, e34-e37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2013.07.020>



Instrucciones para los autores

Actualizadas a junio de 2015

La Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica (RCMQCCR) se publica trimestralmente en español. Esta se dedica a la divulgación de trabajos científicos en las diferentes disciplinas de la microbiología, inmunología, parasitología y la química clínica 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 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 que, 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@gmail.com. Las cartas al editor no deben ser mayores de dos páginas. Las tablas, cuadros y fotografías deben presentarse correctamente identificados.

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

1. El título del artículo debe ser conciso, pero informativo, y debe despertar el interés del lector. En el título no se deben emplear abreviaturas.
2. El resumen debe incluir el propósito de la investigación, los materiales y métodos, los resultados y las conclusiones más importantes. Las Cartas al Editor no llevan resumen ni palabras clave.
3. La Introducción debe resumir los antecedentes del estudio y explicar la hipótesis que se pretende analizar.
4. Si usa abreviaturas debe explicar su significado la primera vez que las mencione.
5. 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.
6. Los resultados deben ser presentados de una forma cuidadosa y congruente con el texto escrito. Se pueden usar gráficos, cuadros o fotografías para explicarlos.
7. La discusión debe ser referida al trabajo realizado; se deben destacar los hallazgos encontrados y compararlos con otros estudios revisados.
8. Si se incluyen conclusiones, estas deben ser breves y precisas.

9. Las referencias se citarán siguiendo el formato de normas APA (American Psychological Association), que se pueden encontrar en: www.normasapa.com.

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 del 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. 

Próximos eventos



2015 AACC American Association of Clinical Chemistry Annual Meeting & Clinical Lab Expo

26 al 30 de julio de 2015

Atlanta, Georgia, EUA

• www.aacc.org

XIII Congreso Centroamericano y del Caribe de Alergia, Asma e Inmunología,

19 al 21 de agosto de 2015

Ciudad de Panamá

• www.congreso-2015.jindo.com

XXIV Congreso Internacional del Grupo CLAHT

27 al 29 de agosto de 2015

Sao Paulo, Brasil

• www.claht2015.com

II Congreso Iberoamericano de Epidemiología y Salud Pública

2 al 4 de setiembre de 2015

Santiago de Compostela, España

• www.reunionanualsee.org

XXII Congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica y Ciencias de Laboratorio Colabiocli 2015,

24 al 26 de setiembre de 2015

Quito, Ecuador

• www.sebiocli-ec.org

INMUNOCOLOMBIA 2015

XI Congreso Latinoamericano de Inmunología y X Congreso Colombiano de Alergia, Asma e Inmunología

13 al 16 de octubre de 2015

Medellín, Colombia

• www.inmunocolombia2015.com/congreso

XXVIII Congreso Brasileiro de Microbiología, 18 al 22 de octubre de 2015

Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

• <http://www.sbmicrobiologia.org.br/>

VI International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology BioMicroWorld2015

28 al 30 de octubre de 2015

Barcelona, España

• www.biomicroworld.org

XXII Congreso Argentino de Hematología II Simposio conjunto Asociación Hematológica Europea (EHA)

28 de octubre al 01 de noviembre de 2015 Mar del Plata, Argentina

• www.sah.org.ar

XXXVII Congreso Chileno de Microbiología

Sociedad de Microbiología de Chile

01 al 04 de diciembre de 2015

La Serena, Chile

• www.somich.cl/

10th International Congress on Autoimmunity

Autoimmunity network

06 al 10 de abril de 2016

Leipzig, Alemania

• www.autoimmunity.kenes.com/

XX Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

26 al 28 de mayo de 2016

Barcelona, España

• www.seic.org

Marcando Diferencias



NOBILIS

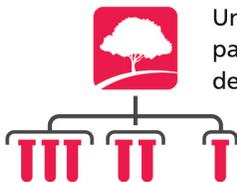
El software de gestión para laboratorios de Wiener lab.

www.nobilis.com.ar

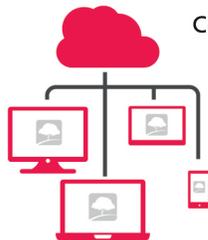


Ahora con Nobilis, el nuevo software de gestión desarrollado integralmente por Wiener lab. Brinda a sus clientes sistemas completos para la resolución de análisis clínicos. Sistemas que contemplan instrumentos, reactivos, software y que funcionan en forma totalmente integrada.

CARACTERISTICAS DEL DISEÑO



Un mismo software para cualquier tipo de laboratorio



Comunicación



Windows® y Google®



Un software que puede crecer ilimitadamente



Un fuerte énfasis en la calidad del informe



Un fuerte énfasis en las interfaces con instrumentos



Acceso remoto

Precio más accesible del mercado.



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