

Revista Mexicana de

Patología Clínica

MEDICINA DE LABORATORIO

Volumen 66, Número 4 / Octubre-Diciembre 2019

Editorial

**Determinación cuantitativa de cloro en el sudor:
Evaluación y comparación de dos métodos analíticos**

Prevalencia de citomegalovirus en donantes de sangre

**Concordancia entre el análisis morfológico
y el inmunofenotipo al momento del diagnóstico
y clasificación de leucemias agudas en pacientes
pediátricos**

**Optimización del volumen sanguíneo en pruebas
de laboratorio (citometría hemática, tiempos
de coagulación y cuantificación de factores)
en pacientes pediátricos**

**Farmacorresistencia de bacterias no fermentadoras
de prioridad crítica aisladas en Chilpancingo, Guerrero**

Hemostasia y factores asociados a tendencia trombótica

***In memoriam*
Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles**

Órgano Oficial:

Asociación Latinoamericana de
Patología Clínica/Medicina
de Laboratorio (ALAPAC/ML)

Federación Mexicana de
Patología Clínica (FEMPAC)



Disponible en versión completa en:

www.medigraphic.com/patologiaclinica

4



Certificaciones y acreditaciones nacionales e internacionales en el 100% de nuestros procesos.

- Acreditación en la Norma ISO 15189:2007
- Acreditación del College of American Pathologists CAP
- Certificación NGSP de Trazabilidad de Hemoglobina glicosilada

Nosotros podemos afirmarlo.

Y nuestro **SERVICIO** lo confirma:

- Personal altamente calificado
- Atención personalizada
- Amplio menú de pruebas
- Protocolos de investigación
- Cobertura a nivel nacional

En **CARPERMOR** podemos afirmarlo...

porque estamos comprometidos con la calidad, damos el mejor resultado.



Contenido / Contents

- 180 Editorial**
Zamora Palma Alberto
- 181 Determinación cuantitativa de cloro en el sudor: Evaluación y comparación de dos métodos analíticos**
Quantitative determination of chlorine in sweat.
Evaluation and comparison of two analytical methods
Salas Carolina, Navea Daniel, Lobos Germán
- 187 Prevalencia de citomegalovirus en donantes de sangre**
Prevalence of cytomegalovirus in blood donors
Barba Evia José Roberto
- 193 Concordancia entre el análisis morfológico y el inmunofenotipo al momento del diagnóstico y clasificación de leucemias agudas en pacientes pediátricos**
Concordance between morphological analysis and immunophenotype at the time of diagnosis and classification of acute leukemia in pediatric patients
Parra-Ortega Israel, Núñez-Hernández Esmeralda, Nájera-Martínez Noemí, Mendoza-García Emma, Cortés-Flores Dolores Catalina, Gaytán-Morales Félix, Castorena-Villa Iván, López-Martínez Briceida
- 212 Optimización del volumen sanguíneo en pruebas de laboratorio (citometría hemática, tiempos de coagulación y cuantificación de factores) en pacientes pediátricos**
Optimization of blood volume in laboratory tests (blood cytometry, coagulation times and factor quantification) in pediatric patients
Parra-Ortega Israel, López-Valladares Karina, De la Rosa-Martínez Gabriel, Ramírez-Malagón Raúl, Viveros-Rodríguez Romina Tamara, Vázquez-Gil Alberto, López-Martínez Briceida
- 221 Farmacorresistencia de bacterias no fermentadoras de prioridad crítica aisladas en Chilpancingo, Guerrero**
Drug resistance of non-fermentation critical priority bacteria isolated in Chilpancingo, Guerrero
Barlandas-Rendón Nicolás Rogelio Eric, Quintana-Ponce Sandra, Nájera-Bello Jorge Antonio, Villanueva-Pastrana Nallely, Cruz-Navarrete Elizabeth, Maya-Rodríguez Patricia Anayeli, Torres-Guzmán Félix
- 227 Hemostasia y factores asociados a tendencia trombótica**
Hemostasis and factors associated with thrombotic tendency
Rodríguez Dávila Sinaí del Carmen, Guzmán Silahua Sandra, Barreno Rocha Sonia Guadalupe, Rubio Jurado Benjamín, Nava Zavala Arnulfo Hernán
- 234 In memoriam**
Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles
Pérez Jáuregui José C

Revista Mexicana de

Patología Clínica

W MEDICINA DE LABORATORIO

DIRECTORIO

Editor: Dr. Alberto Zamora Palma

COMITÉ EDITORIAL

Área de Bacteriología

Dra. Silvia Giono Cerezo

Investigador Titular. SNI: Nivel I. Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México, D.F.

Área de Banco de Sangre y Medicina Transfusional

Dr. Héctor Rodríguez-Moyado

Ex-Director del Banco Central de Sangre CMN Siglo XXI, IMSS. Miembro Honorario de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C.

Miembro Titular de la Asociación Mexicana para el Estudio de la Hematología, Ciudad de México.

Área de Inmunología

Dr. Fernando Antonio Santoscoy Tovar

Jefe del Área de Laboratorio y del Departamento de Microbiología: Bacteriología, Micología, Parasitología y Virología, Unidad de Patología Clínica, Guadalajara, Jalisco, México. Miembro e Inspector del College of American Pathologists (CAP). Miembro de la American Society for Microbiology, de la American Society for Clinical Pathology y de la Clinical Ligand Assay Society.

Área de Hematología

Dra. Blanca Stéfano de Perdomo

Doctor en Medicina, DM, Postgrado en Patología Clínica. Coordinadora del Comité de Expertos de Normalización y Control de Calidad en Hemostasis y Trombosis del Grupo Latinoamericano de Hemostasis y Trombosis (CLAHT). Coordinadora del Programa Nacional Uruguayo de Evaluación Externa de Calidad en Hematología (CECC). Director Técnico del Centro de Estudios e Investigación de Hemostasis y Trombosis (Laboratorio HYGEA, Montevideo, Uruguay).

Área de Bioética y Normativa

Dr. Eduardo García Solís

Médico, Patólogo Clínico, Diplomado en Inmunología Clínica. Director Operativo de la Comisión de Bioética del Estado de Campeche. Académico Numerario de la Academia Nacional de Investigación Clínica. Miembro de la Asociación Mexicana de Medicina Interna, Capítulo Campeche. Miembro de la Sociedad Yucateca de Cardiología. Miembro del Colegio Médico de Campeche, México.

Dr. Jorge Manuel Sánchez González.

Doctor en Ciencias de la Salud y Patólogo Clínico. Ex Vicerrector Académico de la Universidad Autónoma de Guadalajara. Expresidente del Colegio de Patólogos Clínicos del Centro de la República. Médico, Patólogo Clínico, Académico Emérito de la Academia Mexicana de Cirugía. Presidente de la

Academia Nacional de Educación Médica, Capítulo Centro Occidente. Presidente Capítulo Occidente Academia Mexicana de Cirugía. Delegado del IMSS en Guanajuato.

Área de Genética Médica

Dr. Fabio Salamanca Gómez

Médico Genetista, Coeditor de Archives of Medical Research y de Gaceta Médica de México. Profesor Titular de Cursos de Genética en la UNAM y en varias universidades más. Miembro Numerario de la Academia Nacional de Medicina, la Academia Mexicana de Ciencias, la Academia Mexicana de Cirugía y la Academia Mexicana de Pediatría. Coordinador de Investigación en Salud, IMSS, México.

Área de Infectología

Dr. Gustavo Barriga Angulo

Jefe de Laboratorio del Hospital de Infectología, Centro Médico «La Raza», Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

Área de Micología Médica

Dr. Arturo Rubén López Martínez

Profesor Titular C de Tiempo Completo. Médico Cirujano, Doctorado en Ciencias Biomédicas. Nivel de Sistema Nacional de Investigadores II. Jefe del Laboratorio de Micología Médica, Facultad de Medicina, UNAM, Ciudad de México.

Área de Parasitología Médica

Dr. Werner Apt Baruch

Departamento de Medicina Interna-Gastroenterología. Especialidad en Parasitología. Presidente de la Sociedad Chilena de Parasitología (SOCHIPA). Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Campus Sur, Santiago de Chile, Chile.

Dr. Raúl Romero Cabello

Médico Infectólogo del Hospital General de México, Profesor Titular de Parasitología y Micología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM. Miembro de 20 asociaciones médicas, nacionales e internacionales, de Pediatría, Infectología y Parasitología. Ex-Presidente de la Sociedad Mexicana de Parasitología y de la Federación Latinoamericana de Parasitología.

Área de Bioquímica Clínica

Dr. José Roberto Barba Evia

Médico Especialista en Patología Clínica. Subdirector de Auxiliares de Diagnóstico, Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, IMSS. Profesor de la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Yucatán y de la Universidad Anáhuac Mayab, de las cátedras de Patología Clínica, Parasitología Médica y Hematología Clínica.



ÓRGANO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN
MEXICANA DE PATOLOGÍA CLÍNICA
(FEMPAC)

ÓRGANO OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN
LATINOAMERICANA DE PATOLOGÍA CLÍNICA/MEDICINA
DE LABORATORIO (ALAPAC/ML)

AGRUPACIONES DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y DIRECTIVAS ACTUALES:

Mesa Directiva de la Federación Mexicana de Patología Clínica (FEMPAC): 2018-2020

Presidente: Dr. Manuel Canseco Álvarez
Vicepresidente: Dr. Miguel Ángel Reyes Núñez
Secretaria/Tesorera: Dra. Margarita Gutiérrez Ahuactzin

Agrupaciones integrantes de FEMPAC

Asociación Mexicana de Patología Clínica, AC
Asociación Oaxaqueña de Patología Clínica
Colegio de Médicos Patólogos Clínicos de Jalisco, AC
Colegio de Patólogos Clínicos del Centro de la República Mexicana, AC
Colegio Médico de Patólogos Clínicos del Noreste de México
Colegio Poblano de Patología Clínica, AC
Colegio Médico de Patólogos Clínicos de Veracruz

La Federación Mexicana de Patología Clínica es miembro de la Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio (ALAPAC/ML), y de la World Association of Societies of Pathology (Anatomic and Clinical) [WASPaLM].

Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio Junta Directiva 2018-2020

Presidente: Dra. Carolina Prieto Castillo (Chile)
Presidente Alterna 2021: Dra. Gabriela Ma. Moreira Corazza (Uruguay)
Presidente Alterno 2022: Dr. Reynaldo Denis de Armes (Cuba)
Secretario Permanente: Dr. José M. Carreón Moldíz (Bolivia)
Secretaria: Dra. María Jesús Vial (Chile)
Secretario Alterno: Dr. Juan Carlos Hormazábal O. (Chile)
Tesorera: Dra. Isabel Briceño Lizana (Chile)
Tesorero Alterno: Dr. Marcelo Díaz de Valdés (Chile)

Vicepresidencias

Actividades Gremiales y Coordinación:

Dr. Pablo López Pedrozo (Uruguay)
Dr. Enrique Abraham Marcel (Cuba)
Dra. Zulema Berrios Fuentes (Perú)

Control de Calidad y Acreditación:

Dr. Klever Sáenz Flor (Ecuador)
Dr. Armando Moreno de la Cruz (Perú)

Relaciones Industriales:

Dr. Luis Narváez Grijalva (Ecuador)
Dra. Luisane Vieira (Brasil)
Dr. José Luis Hernández Montiel (México)

Planes Futuros:

Dr. Julio Sempértegui Vega (Ecuador)
Dr. Wilson Shcolnik (Brasil)
Dr. Manuel Canseco Álvarez (México)

Actividades Científicas y Educación:

Dra. Rosa Ma. García Escamilla (México)
Dr. Walter Alallón Villero (Uruguay)
Dr. José Luis León Vega (Perú)

Relaciones Internacionales:

Dr. Jesús Alberto Mori Pacheco (Perú)
Dra. Florencia Sundberg Jaume (Uruguay)

Editor de la Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio:

Dr. Alberto Zamora Palma (México)

Representante a la WASPaLM:

Dr. Nairo Massakazu Sumita (Brasil)

Miembros Adherentes

Representante de la Asociación

Bioquímica Argentina:
Dra. Silvia Morilla (Argentina)

Representante de la Sociedad Venezolana

de Bioanalistas Especialistas:
Dra. Yaniska Franquiz (Venezuela)

Directiva de la World Association of Societies of Pathology & Laboratory Medicine 2017-2019

Presidente: Dr. Robert Verna (Italia)
Past-President: Dr. Masami Murakami (Japón)
Secretario Tesorero: Dr. Francesco Curcio (Italia)
Presidente Electo: Dr. Walter Alallón (Uruguay)
Director Norteamérica: Dra. Catherine Hayward (Canadá)
Director Sudamérica: Dr. Nairo Sumita (Brasil)



Imagen de la portada: Tumor dependiente de pared vesical de aspecto mixoide y gelatinoso. Sin hemorragias ni zonas de necrosis.

Imagen publicada en la pág. 235 del volumen 65, número 4, Octubre-Diciembre de 2018, en el artículo Leiomiomasarcoma de vejiga urinaria: a propósito de un caso de difícil diagnóstico de Rodríguez-Cambranis S, et al.

La Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio es el órgano oficial de difusión de la Federación Mexicana de Patología Clínica, AC y de la Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio. Los conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se publica trimestralmente. Suscripción anual en México: \$600.00, para otros países: US\$100.00. Tiraje de 2,000 ejemplares. Derechos reservados conforme a la Ley. Certificado de Licitud de Título Núm. 3023, Certificado de Licitud de Contenido Núm. 1929. Certificado de Reserva de Derechos al Uso Exclusivo Núm. 04-2013-091711535400-102. Publicación periódica. Permiso de Correos PP09-0478.

La Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio está indizada en: Medigraphic Literatura Biomédica; www.medigraphic.com/patologiaclinica, Latindex, PERIODICA UNAM, Literatura Latinoamericana en Salud (LILACS), Centro Latinoamericano y del Caribe en Ciencias de la Salud (BIREME), São Paulo, Brasil. Toda correspondencia o remesa deberá dirigirse al Editor de la Revista: Dr. Alberto Zamora Palma, E-mail: alberto.zamora@medigraphic.com

Arte, diseño, composición tipográfica, pre prensa, impresión y acabado por Graphimedic, SA de CV, Tels. 8589-8527 al 31. E-mail: emyc@medigraphic.com. Impresa en México.

Disponibles en versión completa en Medigraphic, Literatura Biomédica: www.medigraphic.org.mx



Editorial

Zamora Palma Alberto*

Concluimos exitosamente el año con el número cuatro del volumen 66 de la *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*.

El 2019 fue un año difícil por la transición que experimentó la revista y sin embargo, gracias a la participación entusiasta de todos los autores y del grupo editorial, logramos cumplir nuestros objetivos en tiempo y forma.

En este año se publicaron: 28 manuscritos entre artículos científicos y reseñas de eventos importantes que se presentaron en nuestro medio.

Tuvimos momentos de celebración como el Congreso Mexicano de Patología, que se celebró en Boca del Río, Veracruz y que se llevó a cabo exitosamente.

Finalmente, me gustaría recordar a los patólogos clínicos que nos dejaron este año:

El Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles nació en la ciudad de Puebla, Puebla el 25 de septiembre de 1952 y falleció a la edad de 66 años en la misma ciudad el 25 de julio de 2019.

El Dr. Francisco Fernández Loaiza, patólogo clínico que ejerció desde 1954 en la Ciudad de Morelia en Laboratorios ServiMed y dejó el ejercicio de la profesión hasta los 89 años de edad. Nació el 6 de octubre de 1925 y falleció el 25 de octubre de 2019, fue socio fundador del Colegio de Patólogos Clínicos del Centro de la República.

Reciban todos un abrazo fraternal y sigamos adelante con esta importante encomienda.

* Editor de la Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio. Federación Mexicana de Patología Clínica.

Correspondencia:
Zamora Palma Alberto
E-mail: albertoz100@hotmail.com
alberto.zamora@medigraphic.com



Editorial

Zamora Palma Alberto*

Concluimos exitosamente el año con el número cuatro del volumen 66 de la *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*.

El 2019 fue un año difícil por la transición que experimentó la revista y sin embargo, gracias a la participación entusiasta de todos los autores y del grupo editorial, logramos cumplir nuestros objetivos en tiempo y forma.

En este año se publicaron: 28 manuscritos entre artículos científicos y reseñas de eventos importantes que se presentaron en nuestro medio.

Tuvimos momentos de celebración como el Congreso Mexicano de Patología, que se celebró en Boca del Río, Veracruz y que se llevó a cabo exitosamente.

Finalmente, me gustaría recordar a los patólogos clínicos que nos dejaron este año:

El Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles nació en la ciudad de Puebla, Puebla el 25 de septiembre de 1952 y falleció a la edad de 66 años en la misma ciudad el 25 de julio de 2019.

El Dr. Francisco Fernández Loaiza, patólogo clínico que ejerció desde 1954 en la Ciudad de Morelia en Laboratorios ServiMed y dejó el ejercicio de la profesión hasta los 89 años de edad. Nació el 6 de octubre de 1925 y falleció el 25 de octubre de 2019, fue socio fundador del Colegio de Patólogos Clínicos del Centro de la República.

Reciban todos un abrazo fraternal y sigamos adelante con esta importante encomienda.

* Editor de la Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio. Federación Mexicana de Patología Clínica.

Correspondencia:
Zamora Palma Alberto
E-mail: albertoz100@hotmail.com
alberto.zamora@medigraphic.com



Editorial

Zamora Palma Alberto*

Concluimos exitosamente el año con el número cuatro del volumen 66 de la *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*.

El 2019 fue un año difícil por la transición que experimentó la revista y sin embargo, gracias a la participación entusiasta de todos los autores y del grupo editorial, logramos cumplir nuestros objetivos en tiempo y forma.

En este año se publicaron: 28 manuscritos entre artículos científicos y reseñas de eventos importantes que se presentaron en nuestro medio.

Tuvimos momentos de celebración como el Congreso Mexicano de Patología, que se celebró en Boca del Río, Veracruz y que se llevó a cabo exitosamente.

Finalmente, me gustaría recordar a los patólogos clínicos que nos dejaron este año:

El Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles nació en la ciudad de Puebla, Puebla el 25 de septiembre de 1952 y falleció a la edad de 66 años en la misma ciudad el 25 de julio de 2019.

El Dr. Francisco Fernández Loaiza, patólogo clínico que ejerció desde 1954 en la Ciudad de Morelia en Laboratorios ServiMed y dejó el ejercicio de la profesión hasta los 89 años de edad. Nació el 6 de octubre de 1925 y falleció el 25 de octubre de 2019, fue socio fundador del Colegio de Patólogos Clínicos del Centro de la República.

Reciban todos un abrazo fraternal y sigamos adelante con esta importante encomienda.

* Editor de la Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio. Federación Mexicana de Patología Clínica.

Correspondencia:
Zamora Palma Alberto
E-mail: albertoz100@hotmail.com
alberto.zamora@medigraphic.com

www.medigraphic.org.mx

Determinación cuantitativa de cloro en el sudor: Evaluación y comparación de dos métodos analíticos

Quantitative determination of chlorine in sweat. Evaluation and comparison of two analytical methods

Salas Carolina,* Navea Daniel,* Lobos Germán†

Palabra clave:

Fibrosis quística, test del sudor, Gibson y Cooke.

Keywords:

Cystic fibrosis, sweat test, Gibson and Cooke.

* Unidad de Laboratorios Clínicos, Hospital «Dr. Luis Calvo Mackenna». Providencia, Santiago de Chile.

† Programa de Investigación de Excelencia Interdisciplinaria en Envejecimiento Saludable (PIEI-ES), Universidad de Talca, Talca, Chile.

Correspondencia:

Carolina Salas Palma
Jefe de Laboratorios Clínicos, Hospital «Dr. Luis Calvo Mackenna». Av. Antonio Varas Núm. 360, Santiago, Providencia, Chile.
Teléfono: +56 2 25756293
E-mail: csalas@calvomackenna.cl

Recibido:

15/11/2019

Aceptado:

02/12/2019

RESUMEN

Introducción: En 99% de los pacientes diagnosticados con fibrosis quística se presenta una alteración en la concentración de cloro en el sudor (mayor a 60 mEq/L), por lo cual el test del sudor es el examen de confirmación para esta enfermedad. De ahí, la necesidad de que el laboratorio disponga de técnicas validadas como metodología de referencia. **Objetivo:** Se realizó una verificación analítica del equipo Sherwood Chloride Analyzer 926® para la medición de cloro en el sudor, recolectado por la técnica de Gibson y Cooke. **Material y métodos:** Estudio prospectivo, realizado entre mayo y agosto de 2015. Se analizaron 441 muestras de sudor en equipos Labconco® (referencia) y Chloride Analyzer 926® (prueba). Para el análisis de los valores cuantitativos, se utilizó el coeficiente de correlación intraclass y de concordancia de Lin; para los cualitativos, se utilizó el índice Kappa y el área bajo la curva de rendimiento diagnóstico. **Resultados:** Se obtuvo un grado de acuerdo con ambas medidas con valores de coeficiente de correlación intraclass = 0.9936 y coeficiente de correlación de concordancia = 0.9672 para un intervalo de confianza del 95%. **Conclusiones:** El equipo Sherwood Chloride Analyzer 926® tiene un comportamiento analíticamente similar al de referencia.

ABSTRACT

Introduction: In 99% of patients diagnosed with cystic fibrosis have an alteration in the concentration of chlorine in sweat (greater than 60 mEq/L), so the sweat test is the disease confirmation test. Hence the need that the laboratory has validated techniques reference methodology. **Objective:** Analytical verification of the Sherwood Chloride Analyzer 926® equipment for measuring chlorine in sweat, collected by the Gibson and Cooke technique. **Material and methods:** Prospective study conducted between May and August 2015 441 sweat samples were analyzed in Labconco® (reference) and Sherwood Chloride Analyzer 926® (test) equipment. For the analysis of quantitative values, intraclass correlation coefficient and Lin concordance were used, for the qualitative Kappa index and area under the diagnostic performance curve was used. **Results:** A degree of agreement was obtained for both measures with intraclass correlation coefficient values = 0.9936 and concordance correlation coefficient = 0.9672 for a 95% confidence interval. **Conclusions:** The Sherwood Chloride Analyzer 926® has an analytically similar behavior to the reference.

INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad de herencia mendeliana autosómica recesiva, es decir, que se presenta cuando ambos padres de un niño con esta enfermedad son portadores, su recurrencia tiene un riesgo de 25% por cada gestación y cada hijo sano tiene 2/3 de probabilidades de ser portador.¹ Asimismo, constituye la enfermedad hereditaria

letal más frecuente en la raza caucásica, con una incidencia de 1:3,200 recién nacidos en Estados Unidos.²

La presencia de dos mutaciones en el gen que codifica la proteína reguladora de la conductancia transmembrana (CFTR) confirma el diagnóstico, sin embargo, éste no puede ser descartado en aquellos pacientes con ninguna o solo una mutación identificada.³

Considerando que en más de 99% de los pacientes con FQ se tienen valores elevados en las concentraciones de sodio (Na) y cloro (Cl) en muestras de sudor (mayores a 60 mEq/L), el resultado del test del sudor se considera como confirmatorio.

Se han descrito una serie de técnicas de recolección de sudor.⁴ Sin embargo, en Chile, tal como se realiza en otros países,⁵ la técnica de referencia sigue siendo la técnica de Gibson y Cooke,⁶ la cual consiste en la recolección de sudor por iontoforesis. Posterior a esta recolección, se realiza el análisis propiamente, que consiste en la determinación cuantitativa de Cl utilizando coulometría.⁷ Clínicamente, por una parte, una concentración de cloruro menor a 30 mEq/L descarta la presencia de la enfermedad, pero concentraciones entre 30 a 59 mEq/L son indicadores de un diagnóstico dudoso, por lo que se sugiere una repetición del examen. Por la otra, valores mayores a 60 mEq/L son suficientes para establecer el diagnóstico de FQ.⁸

En Chile, el Ministerio de Salud es el organismo que define los centros de referencia de la red asistencial pública para el diagnóstico y tratamiento de diversas patologías. En el año 2003, designó al Hospital «Dr. Luis Calvo Mackenna» (HLCM) como uno de los centros de referencia para FQ. A partir de ese año, el Laboratorio Clínico del mismo hospital se estableció como uno de los centros a nivel país en donde se comenzó a realizar el examen confirmatorio de test del sudor, utilizando para ello el clorhidrómetro Labconco® (equipo referencia) para la determinación cuantitativa del Cl en el sudor, el cual es realizado por coulometría.

Lamentablemente, este equipo fue discontinuado, por lo que fue imposible contar con la reposición de piezas, así como el abastecimiento de reactivos necesarios para su funcionamiento. Es por eso que el objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar analíticamente un nuevo equipo (prueba): Sherwood Chloride Analyzer 926®, para la medición de Cl en el sudor recolectado mediante iontoforesis y, de este modo, se pueda dar continuidad al diagnóstico de FQ, utilizando para ello la metodología de referencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de investigación y selección de la muestra

Se trata de un estudio prospectivo llevado a cabo de mayo a agosto de 2015. El análisis de las muestras de sudor se realizó en el Laboratorio Clínico del Hospital «Dr. Luis Calvo Mackenna» (HLCM). En él se incluyeron todas las muestras obtenidas durante el periodo de estudio, cuyo peso de sudor obtenido se encontrara entre los 100 y 200 mg. Se excluyeron todas aquellas muestras con pesos

de sudor menor a 100 mg y mayor a 200 mg. No hubo reclutamiento de pacientes para este estudio, puesto que se trataba de muestras de pacientes que se encontraban en control o diagnóstico de FQ.

Recolección de las muestras

La toma de muestra de sudor fue realizada por personal de laboratorio debidamente entrenado y capacitado.⁹ El método de recolección de sudor utilizado fue el método de Gibson y Cooke, el cual consiste en la recolección de sudor en papel filtro, luego de la estimulación de la secreción sudoral por iontoforesis con pilocarpina. Posterior a la obtención de la muestra de sudor, ésta se diluyó con 15 mL de agua bidestilada y se dejó reposar al menos por 24 horas a temperatura ambiente antes de realizar la medición de Cl. Las muestras en estas condiciones son estables hasta por cinco días a temperatura ambiente.

La obtención de la muestra indicada anteriormente se utilizó para realizar las mediciones en ambos equipos en paralelo.

Selección de equipo de prueba

Se seleccionó el equipo Sherwood Chloride Analyzer 926® debido a que las condiciones de la muestra eran similares que el equipo de referencia. Asimismo, ambos equipos (referencia y de prueba) utilizan como metodología analítica la titulación coulométrica.

Análisis cuantitativo del Cl por medio del equipo Labconco® y de Sherwood Chloride Analyzer 926® por coulometría

El equipo de referencia Labconco® de manera rutinaria es manejado utilizando los controles comerciales Sweat control (EliTech Group®) en tres niveles: 22, 50 y 100 mEq/L, cuyos coeficientes de variación son de 4.6, 2.0 y 1.0 respectivamente. Además, se utilizó el programa Sweat Analysis como control de calidad externo por el Colegio Americano de Patólogos (CAP). Tanto el análisis como validación de resultados fue realizado por profesionales capacitados y debidamente acreditados según la normativa nacional para desempeñarse en laboratorio clínico.

Se estableció al equipo Labconco® como referencia y al equipo Sherwood Chloride Analyzer 926® como equipo de prueba. La medición de Cl de cada muestra se realizó en equipo de referencia y equipo de prueba.

Los análisis de medición de Cl en cada equipo se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante para cada uno de ellos.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software SPSS 22.0® y MedCalc v.15.8. Una concentración de Cl menor a 30 mEq/L sirvió para descartar la presencia de la enfermedad (X = 0) y una concentración entre 30 a 59 mEq/L fue indicador de un diagnóstico dudoso (X = 1); en dado caso, se sugirió una repetición del examen, en tanto valores mayores a 60 mEq/L fueron suficientes para establecer el diagnóstico de FQ (X = 2).⁸ Valores de Cl mayores a 160 mEq/L no se consideraron fisiológicamente posibles, más bien se consideraron como indicadores de errores en la recolección de la muestra.² Para un análisis multinominal, se consideraron los resultados que descartan la enfermedad (X = 0), que son dudosos (X = 1) y que confirman la presencia de la enfermedad (X = 2).

Sin embargo, dado que el resultado de interés es «ausencia/presencia» de FQ, las variables fueron recodificadas; además, en una variable cualitativa binomial como un valor menor a 60 mEq/L, se descartó la presencia de la enfermedad (X = 0) y en valores mayores a 60 mEq/L implicó establecer el diagnóstico de FQ (X = 1).

Para la concordancia entre los valores obtenidos en el equipo de referencia en comparación con el de prueba, se utilizó el coeficiente de correlación-concordancia (Pc) de Lin.¹⁰ Se calculó también el índice ponderado de Kappa de Cohen¹¹ para medir la concordancia de las variables cualitativas, el cual ajusta el efecto del azar en la proporción de la concordancia observada. Utilizando las tablas de contingencia, se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN), además se utilizó la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para calcular la exactitud.

RESULTADOS

En este estudio se incluyó un total de 441 muestras de sudor (n = 441), obtenidas de individuos independientes entre sí y recolectadas durante el periodo de estudio (Tabla 1). A cada muestra se le determinó la concentración de

Concentración de CL	n (%)
< 29 mEq/L	411 (93)
30-59 mEq/L	13 (3)
> 60 mEq/L	17 (4)

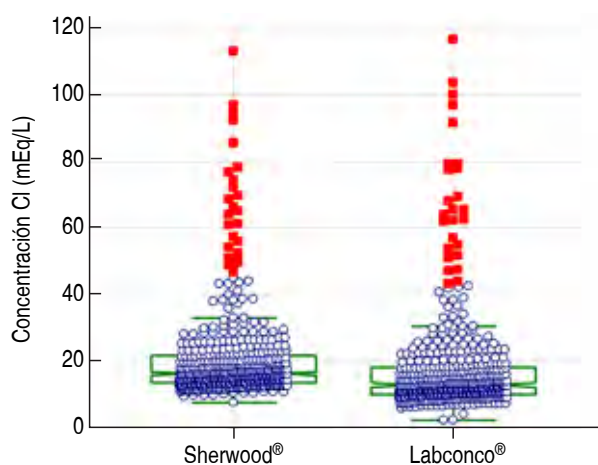


Figura 1: Dispersión de los datos.

Cl de manera paralela en ambos equipos (referencia y prueba). Se recolectaron muestras de sudor de pacientes menores de 15 años. El peso promedio de sudor obtenido fue de 132 ± 16 mg. El valor promedio de Cl fue de 17.8 ± 15.1 mEq/L para equipo Labconco® y de 20.8 ± 13.8 mEq/L para equipo Sherwood Chloride Analyzer 926®.

Análisis de datos

La prueba W de Shapiro-Wilk¹² permitió rechazar la normalidad de los datos del equipo Labconco® (W = 0.6123, p < 0.0001) y de Sherwood Chloride Analyzer 926® (W = 0.613, p < 0.0001). La distribución de los valores se puede observar gráficamente en las Figuras 1 y 2, donde existe una alta concentración de los datos para los valores menores a 40 mEq/L.

Según la prueba C de Cochran,¹³ no se observaron valores anómalos ($C_{calc.} = 0.11 < C_{crít., \alpha = 2.5\%} = 0.50$) (Figura 1).

Existe un error sistemático del equipo

El equipo Sherwood Chloride Analyzer 926® respecto al equipo Labconco® en nuestro análisis correspondió a -1.8. La línea de regresión de las diferencias muestra que la diferencia entre ambos métodos es lineal a lo largo del rango de medición. Esto significa que el error sistemático es proporcional (Figura 2).

Se realizó un análisis de correlación entre los valores de Cl obtenidos por cada equipo, obteniéndose un grado de acuerdo absoluto de ambas medidas (CCI = 0.9936). Además, se obtuvo $\rho = 0.9918$ (precisión) y $C_b = 0.9756$ (exactitud), por lo que Pc fue = 0.9672 (Tabla

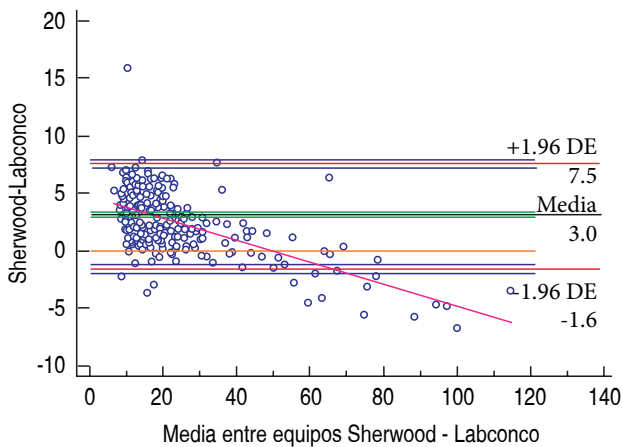


Figura 2: Gráfico de Bland y Altman y error sistemático.

2). Para el análisis cualitativo de los resultados, se realizó un análisis multinomial (ausencia de la enfermedad, diagnóstico dudoso o diagnóstico de FQ) y se obtuvo una concordancia global observada de 99.55%, con un índice Kappa (IC) = 0.965 (DE = 0.024) e índice ponderado Kappa = 0.977 (DE = 0.016) (Tabla 3). Finalmente se realizó análisis binomial (ausencia de la enfermedad y diagnóstico de FQ), obteniéndose una concordancia global observada de 99.77%, con un índice Kappa (IC) = 0.969 (Tabla 4).

El valor predictivo positivo (VPP) se estimó en 100% (Tabla 5), mientras que el valor predictivo negativo (VPN) se estimó en 99.76%. La sensibilidad (S) o probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo (FVP) fue de 99.12%. La especificidad (E) o probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano (FVN) fue de 100%. El área bajo la curva ROC fue 97.10% ($p < 0.001$).

DISCUSIÓN

Las recomendaciones y guías internacionales sugieren el uso de la iontoforesis como la técnica de recolección del sudor y posterior titulación del Cl por coulometría.³ A pesar de ello, existen una serie de metodologías para la determinación de Cl, tales como colorimetría y métodos de electrodo-ion selectivo (ISE).⁷ Para nosotros fue muy importante poder realizar una verificación del nuevo equipo sin introducir cambios a la toma de muestra de sudor; por este motivo, la comparación de ambos equipos se realizó de manera paralela utilizando en forma consecutiva la misma muestra. También era importante dar continuidad al examen utilizando la misma metodología de medición de Cl que, en este caso, es la titulación coulométrica.

Tabla 2: Coeficiente de correlación-concordancia de Lin (n = 441).

Variable Y	Labconco® (referencia)
Variable X	Sherwood® (prueba)
Tamaño de la muestra	441
Coeficiente de correlación intraclase (CCI)	0.9936
Intervalo de confianza al 95%	(0.9936 - 0.9947)
Correlación de Pearson (ρ)	0.9918
Factor de corrección de sesgo (C_b)	0.9756
Coeficiente de correlación-concordancia de Lin (P_c)	0.9672
Intervalo de confianza al 95%	(0.962 - 0.9718)

En relación con las variables cuantitativas se puede ver que existe una muy buena concordancia entre los resultados conseguidos por ambos equipos, obteniendo un coeficiente de correlación intraclase de 0.9936, lo cual demuestra una correlación excelente. Además, fue posible obtener una precisión demostrada a través del además un coeficiente de Pearson (ρ 0.9918) y la exactitud mediante el coeficiente de correlación (concordancia p_c de 0.9672).

Al realizar el análisis en relación a las variables cualitativas, se puede observar una concordancia casi perfecta para ambas comparaciones, cuyos resultados resultaron ser de 99.6 y 99.8%, en caso de considerar los tres intervalos probables (multinomial) y presencia o ausencia de la enfermedad (binomial), respectivamente.

Otro de los análisis cualitativos que se realizaron fue conocer el valor predictivo del resultado del examen obtenido por el equipo de prueba en relación con el de referencia. La probabilidad de tener la enfermedad si el resultado del examen es positivo (VPP = 100%) y la probabilidad de no tener la enfermedad si el resultado del examen es negativo (VPN = 99.8%); la sensibilidad (FVP = 99.1%), y la especificidad (FVN = 100%) sugieren una alta capacidad predictiva. Según el área bajo la curva ROC, la capacidad predictiva de ambas medidas es buena.

Encontramos diferencias en los resultados de Cl solo en un caso, el cual presentó un valor de 61.85 (equipo de referencia) y de 57.26 (equipo de prueba); claramente estos valores estaban muy cerca del valor de corte, por lo cual la diferencia observada hizo clasificar los resultados de manera diferente. Sin embargo, analíticamente hablando, los valores están dentro de los límites aceptables.

Tabla 3: Clasificación resultados de equipos, proporción de aciertos y errores: multinomial.

		Equipo Sherwood® (prueba)			Total	%		
		Y = 0	Y = 1	Y = 2				
Equipo Labconco® (referencia)	X = 0	410	1	0	411	93.2		
	X = 1	0	13	0			13	2.9
	X = 2	0	1	16			17	3.9
Total		410	15	16	441	100.0		
%		93.0	3.4	3.6	100.0			
Número de aciertos			441					
Concordancia global (%)			99.55					
Índice de kappa (K)			0.965 DE = 0.024 (0.918-1.000)					
Índice ponderado kappa (Kc)			0.977 DE = 0.016 (0.946-0.925)					

Tabla 4: Clasificación resultados de equipos, proporción de aciertos y errores: binomial.

		Equipo Sherwood® (prueba)		Total	%
		Y = 0	Y = 1		
Equipo Labconco® (referencia)	X = 0	424	0	424	96.1
	X = 1	1	16		
Total		425	16	441	100
%		96.4	3.6	100.0	
Número de aciertos			440		
Concordancia global (%)			99.77		
Índice de kappa (K)			0.969 DE = 0.031 (0.907-1.000)		
Índice ponderado kappa (Kc)			0.969 DE = 0.031 (0.907-1.000)		

Tabla 5: Clasificación resultados de equipos, proporción de aciertos y errores (n = 441).

	Equipo Labconco® (diagnóstico de referencia)	
	Y = 0 (negativo)	Y = 1 (positivo)
Equipo Sherwood® (prueba diagnóstica)	X = 1 (positivo)	FP = 0
	X = 0 (negativo)	VP = 16
VPP (valor predictivo positivo) (%)		VN = 424
VPN (valor predictivo negativo) (%)		FN = 1
Sensibilidad, FVP (%)		100.0
Especificidad, FVN (%)		99.76
Área bajo la curva ROC		99.12
%		100.0
DE		84.6
IC		0.033
		(0.905, 1.036)

En un estudio anterior se probó el equipo Sherwood Chloride Analyzer 926[®], pero obteniendo la muestra con otro sistema de colección de sudor. En ambos casos, los resultados fueron similares, lo cual reafirma nuestros resultados.¹⁴

Nuestro estudio correspondió a un estudio de verificación analítico, sin considerar la demografía de los pacientes de los cuales se obtuvo la muestra; no obstante, se cumplió el objetivo de dar continuidad al diagnóstico de FQ utilizando un nuevo equipo Sherwood Chloride Analyzer 926[®], que ha sido verificado con el equipamiento de referencia.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con estos resultados, se concluye que se puede reemplazar el equipo Sherwood Chloride Analyzer 926[®] (prueba) por el equipo Labconco[®] (referencia) para la realización del examen de test del sudor, usando la metodología de referencia de coulometría y sin alterar la toma de muestra de sudor (etapa preanalítica), la cual está estandarizada por la metodología de Gibson y Cooke.

REFERENCIAS

1. Sánchez I, Pérez A, Boza L, Lezana V, Vila MA, Repetto G et al. Consenso nacional de fibrosis quística. *Rev Chil Pediatr.* 2001; 72 (4): 356-380.
2. Farrell P, White T, Ren C, Hempstead S, Accurso F, Derichs N et al. Diagnosis of cystic fibrosis: consensus guidelines from the cystic fibrosis foundation. *J Pediatr.* 2017; 181: S4-S15. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.09.064.
3. Massie J, Greaves R, Metz M, Wiley V, Graham P, Shepherd S et al. Australasian Guideline (2nd ed.): An annex to the CLSI and UK guidelines for the performance of the sweat test for the diagnosis of cystic fibrosis. *Clin Biochem Rev.* 2017; 38 (3): 115-130.
4. Gokdemir Y, Vatansever P, Karadag B, Seyrek T, Baykan O, Bas Ikioglu N et al. Performance evaluation of a new coulometric endpoint method in sweat testing and its comparison with classic Gibson & Cooke and chloridometer methods in cystic fibrosis. *Front Pediatr.* 2018; 6: 133. doi: 10.3389/fped.2018.00133.
5. Vermeulen F, Lebecque P, De Boeck K, Leal T. Biological variability of the sweat chloride in diagnostic sweat tests: a retrospective analysis. *J Cyst Fibros.* 2017; 16 (1): 30-35. doi: 10.1016/j.jcf.2016.11.008.
6. Gibson L, Cooke R. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* 1959; 23 (3): 545-549.
7. Mishra A, Greaves R, Massie J. The relevance of sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis in the genomic era. *Clin Biochem Rev.* 2005; 26 (4): 135-153.
8. Grupo Técnico, Programa de Fibrosis Quística, Unidad de Salud Respiratoria, Subsecretaría de Redes Asistenciales. Ministerio de Salud del Gobierno de Chile. Guía Técnica "Programa Nacional de Fibrosis Quística Orientaciones Técnicas Programáticas para Diagnóstico y Tratamiento" 2012.
9. LeGrys V, Applequist R, Briscoe D, Farrell P, Hickstein R, Lo S et al. Sweat testing: sample collection and quantitative chloride analysis; Approved Guideline. 3rd edition. CLSI document C34-A3: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
10. Lin L. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics.* 1989; 45 (1): 255-268.
11. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement.* 1960; 20 (1): 37-46.
12. Shapiro S, Wilk M. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika.* 1965; 52 (3-4): 591-611.
13. Cochran W. The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. *Annals of Human Genetics.* 1941; 11 (1): 47-52.
14. Emiralioglu N, Özçelik U, Yalçın E, Doğru D, Kiper N. Diagnosis of cystic fibrosis with chloride meter (Sherwood M926S chloride analyzer[®]) and sweat test analysis system (CFA collection system[®]) compared to the Gibson Cooke method. *Turk J Pediatr.* 2016; 58 (1): 27-33.



Prevalencia de citomegalovirus en donantes de sangre

Prevalence of cytomegalovirus in blood donors

Barba Evia José Roberto*

Palabras clave:

Citomegalovirus, transfusión de sangre.

Keywords:

Cytomegalovirus, blood transfusion.

* Coordinador Clínico de turno de la Unidad Médica de Alta Especialidad de Mérida, Yucatán. Instituto Mexicano del Seguro Social. Responsable Sanitario del Banco de Sangre del Instituto Médico Panamericano, S.A. de C.V.

Correspondencia:

Dr. José Roberto Barba Evia

Calle 37 A Núm. 318, entre 24 y 26, Fracc. Montealbán, 97114, Mérida, Yucatán, México.

E-mail: dr_barba@hotmail.com

Recibido:

31/10/2019

Aceptado:

13/11/2019

RESUMEN

Antecedentes y objetivos: La infección por citomegalovirus (CMV) causada por transfusión (CMV-TT) puede representar un serio problema a los receptores inmunocomprometidos. Aunque no es de carácter obligatoria, la determinación de anticuerpos anti-CMV, como parte de las pruebas para detectar agentes infecciosos transmitidos por la transfusión de sangre, es importante documentar la prevalencia de reactividad de los anticuerpos contra el CMV en el grupo de donantes de sangre, pues así se puede determinar la potencial probabilidad de transmisión a través de la transfusión de sangre y hemoderivados de este virus, y así determinar las mejores prácticas de transfusión para prevenir la infección por CMV-TT. El presente estudio se realizó para establecer la prevalencia de la infección por CMV entre los donantes de sangre mediante la determinación sérica de anticuerpos tipo IgG e IgM anti-CMV. **Material y métodos:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo en 1,007 muestras de suero de donantes de sangre y plaquetas a las que se les realizó la titulación de anticuerpos IgG e IgM anti-CMV mediante inmunoanálisis por quimioluminiscencia. **Resultados:** De 1,007 donantes, de los cuales 775 fueron hombres y 232 mujeres, 724 fueron reactivos para anticuerpos anti-CMV IgG y 10 para anticuerpos anti-CMV IgM. En 273 donantes los anticuerpos IgG e IgM fueron no reactivos. **Conclusión:** El estudio demostró la influencia estadísticamente significativa entre la edad y la prevalencia de anticuerpos anti-CMV IgG e IgM anti-CMV en donantes de sangre. Asimismo, mostró que los porcentajes más altos están entre las edades de 31 a 50 años.

ABSTRACT

Background and objectives: Cytomegalovirus (CMV) infection caused by transfusion (CMV-TT) can be a serious problem for immunocompromised receptors. Although the determination of anti-CMV antibodies is not mandatory as part of the tests for the detection of infectious agents transmitted by transfusion, it is important to document the prevalence of reactivity of antibodies against CMV in the blood donor group to determine the probability of transmission through blood transfusion and blood products from this virus and with it, to determine the best transfusion practices to prevent CMV-TT infection. The present study was conducted to determine the prevalence of CMV infection among blood donors by determining serum IgG and IgM anti-CMV antibodies. **Material and methods:** An observational, descriptive and retrospective study was carried out on 1,007 serum samples from blood donors and platelets, in which the titration of anti-CMV IgG and IgM antibodies was performed, by chemiluminescence immunoassay. **Results:** Of 1,007 donors, 775 men and 232 women, 724 were positive for anti-CMV IgG antibodies and 10 were positive for anti-CMV IgM antibodies. In 273 donors the IgG and IgM antibodies were non-reactive. **Conclusion:** The study showed statistically significant influence between age and the prevalence of anti-CMV IgG and anti-CMV IgM antibodies in blood donors, with the highest percentages being between the ages of 31 and 50 years.

INTRODUCCIÓN

El herpesvirus humano 5 o citomegalovirus (CMV) es un virus con genoma de doble cadena de ADN que está contenido en una cápside, constituida por una bicapa lipídica que incorpora varias glucoproteínas (gB, gH, gL, gM, gN y gO). Es el miembro más importante de la familia *Herpesviridae*, subfamilia beta (Tabla 1),

e infecta principalmente a las células epiteliales de la mucosa humana. La forma de contagio del CMV se realiza por contacto estrecho con personas que eliminan el virus a través de fluidos corporales, por lo que la transmisión puede ser de tipo vertical (transplacentaria de madre a feto) u horizontal (a través del contacto directo con secreciones contaminadas, como lágrimas, orina, heces fecales, sangre, saliva,

placenta, leche materna, líquido amniótico, secreciones vaginales y semen, por lo que el virus se puede detectar en muestras de estas secreciones). Otro medio de transmisión ocurre a través de trasplante de órganos o de transfusión de sangre y hemoderivados, los cuales contienen células con el virus presente, por lo que el riesgo de transmisión es todavía un tema de particular preocupación que debe ser minimizado.

La exposición viral en un huésped no expuesto conduce a una fase de infección aguda, que se caracteriza por altas cargas virales en los glóbulos blancos de la sangre periférica, así como viremia plasmática y, posteriormente, al desarrollo de la respuesta inmune antiviral del huésped. El anticuerpo producido en el suero humano lo previene de la reinfección con el mismo serotipo, sin embargo, no detiene la reactivación de la infección viral oculta o de la infección con nuevos virus. En sujetos no expuestos previamente e inmunocompetentes, la primoinfección con CMV produce un cuadro clínico que la mayoría de las veces no es patognomónico y que puede llegar a resolverse espontáneamente sin mayores complicaciones. Las manifestaciones clínicas pueden presentarse como un síndrome similar a la mononucleosis infecciosa causada por el virus Epstein-Barr (en adolescentes y adultos jóvenes), dentro de los que se incluyen: fiebre, malestar general, mialgia, disfunción hepática y linfocitosis negativa al anticuerpo heterófilo, lo cual puede ocurrir varias semanas después de la exposición.

Después de la infección primaria, el genoma del CMV persiste en forma latente, probablemente en la médula

ósea o en las células madre hematopoyéticas (CD34+), en las células progenitoras de colonias granulocítica-macrófagos (CD33+) y en monocitos (CD14+), sin embargo, aparte de las mencionadas (fibroblastos y endoteliales) otras células pueden albergar al virus de manera latente, desde las que se disemina y bajo ciertas condiciones puede provocar que se presenten periodos de reactivación y producir infecciones persistentes.

Entre los individuos seronegativos en riesgo de desarrollar una morbilidad significativa por CMV, se incluyen aquéllos con inmadurez inmunológica e inmunocomprometidos, como son mujeres embarazadas, neonatos con bajo peso al nacer (< 1,200 gr), pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), así como aquéllos que reciben quimioterapia u otra terapia inmunosupresora, dentro de los que se incluyen aquéllos sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas o de órganos y pacientes con cáncer, leucemia o linfoma. En estos pacientes existe el riesgo de adquirir infecciones oportunistas, por lo que la infección primaria con CMV o la reactivación de la misma pueden dar lugar a complicaciones graves e incluso la muerte, debido a citopenias (trombocitopenia, leucopenia), anemia hemolítica, retinitis, meningoencefalitis, miocarditis, gastroenteritis, hepatitis o neumonía fulminante, pese a la terapia antiviral moderna.

El CMV es también la infección viral congénita e infantil más común, cuya prevalencia varía entre 0.2 a 2.4%. Tanto los neonatos prematuros con bajo peso (< 1,200 gr), como los de término, pueden infectarse de

Tabla 1: Clasificación de los herpesvirus.

Subfamilia/género	Nombre oficial	Nombre vernáculo	Propiedades	
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	Herpesvirus humano 1	Virus herpes simple 1	
		Herpesvirus humano 2	Virus herpes simple 2	
	<i>Varicellavirus</i>	Herpesvirus humano 3	Virus varicela-zóster	Citolítico
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Citomegalovirus</i>	Herpesvirus humano 5	Citomegalovirus	Citomegálico
	<i>Roseolovirus</i>	Virus herpes humano 6		Linfoproliferativo
		Virus herpes humano 7		Linfoproliferativo
<i>Gammaherpesvirinae</i>	Herpesvirus humano 4	Herpesvirus humano 4	Virus Epstein-Barr	Linfoproliferativo
		Herpesvirus humano 8	VHSK	Linfoproliferativo

VHSK = Virus herpes relacionada con el sarcoma de Kaposi.

Tomado y modificado de: Roback JD. CMV and blood transfusions. Rev Med Virol. 2002; 12: 211-219 y Barba-Evia JR. Citomegalovirus y trasplante renal: una combinación peligrosa. Rev Mex Patol Clin. 2006; 53 (1): 52-61.^{4,10}

forma transplacentaria o durante el nacimiento a través del contacto con secreciones vaginales de la madre seropositiva a CMV, o bien pueden adquirir la infección en el periodo neonatal a través de transfusiones de sangre o por la leche materna de madres infectadas.

La infección con CMV es una de las infecciones virales más difundidas en todo el mundo y puede afectar al humano desde su nacimiento. Los estudios epidemiológicos en todo el mundo han reportado una amplia prevalencia de esta infección, la cual en países desarrollados es de 40% en niños y aumenta en la adolescencia para alcanzar un punto máximo de 85 a 87% en las edades de 30 a 40 años, mientras que en países subdesarrollados, la cifra fluctúa entre 90 y 100% en cualquier etapa de la vida, lo que ilustra que esta variación depende de los patrones de transmisión, así como de los de higiene individual y social.

El primer pico de seropositividad ocurre en la infancia temprana y resulta de la transmisión vertical y horizontal mediante ciertas secreciones, tales como las respiratorias. Un nuevo pico tiene lugar en adultos jóvenes, mayormente debido a la transmisión sexual. La seroprevalencia de CMV entre los donantes de sangre es variable, y aunque es un grupo autoseleccionado, ésta refleja la misma tendencia que aquélla que se presenta en la población en general.

El diagnóstico de la infección se basa en la sintomatología del paciente y, en términos de exámenes de laboratorio, en los estudios serológicos que buscan y cuantifican inmunoglobulinas tipo IgG e IgM anti-CMV, así como la determinación del ADN viral. Durante la primoinfección por CMV ocurre un aumento importante en la concentración de IgM seguida de la IgG. Al resolverse la enfermedad, los niveles séricos de IgM descienden paulatinamente hasta ser imperceptibles, mientras que la IgG puede permanecer positiva durante toda la vida del sujeto, por lo que esta inmunoglobulina se considera un marcador de contacto previo con el virus. La seroconversión generalmente ocurre entre seis y ocho semanas después de la infección, lo que resulta en un periodo de ventana seronegativo en el que la viremia es alta y las cargas virales asociadas con células pueden ser prominentes. Cuando ocurre un proceso de reinfección o de reactivación, los niveles de IgM anti-CMV se elevan, por lo que se considera que hay una infección en curso por este virus. La gravedad de la infección por CMV se correlaciona directamente con el grado de inmunosupresión o condición del paciente, así como con el estado serológico de los pacientes y de los donantes de órganos o hemoderivados. Además, es importante considerar que después de un trasplante, la presencia de enfermedad sistémica con CMV parece ser un factor pronóstico para la supervivencia del injerto a largo plazo.¹⁻¹⁵

Uno de los principales objetivos de la transfusión sanguínea es mantener la adecuada oxigenación de los tejidos para su supervivencia en personas que padecen algún tipo de anemia; por lo tanto, la transfusión sanguínea es un recurso terapéutico muy utilizado. Sin embargo, a pesar de sus ventajas y potencial terapéutico, no está exenta de riesgos y peligros para el receptor. La infección por CMV-TT (se refiere a la transmisión de CMV replicante o latente desde un donante infectado a un receptor susceptible sin infección por CMV) se describió por primera vez en la década de 1960, en pacientes transfundidos durante cirugía de *bypass* cardiopulmonar a corazón abierto. En estos pacientes, la presencia de fiebre, esplenomegalia y linfocitosis atípica fueron sugestivas de mononucleosis infecciosa, pero la prueba de anticuerpos heterófilos fue negativa. Un aumento en el título de anticuerpos antifijador de complemento anti-CMV, así como la detección del virus en muestras de orina y sangre de estos pacientes coincidió con la presencia de los síntomas de la enfermedad, lo que indicaba que CMV era el agente etiológico. Veinte años después, los estudios moleculares demostraron inequívocamente la aparición de CMV-TT después de realizar el seguimiento de una cepa de CMV de un donante de sangre y del receptor de la transfusión.

CMV es el único herpesvirus humano que constituye un riesgo significativo para la seguridad en el suministro de sangre. Tres son los factores que pueden explicar parcialmente esta situación: a) el CMV es trópico para leucocitos; b) existe una gran población de receptores de transfusión CMV seronegativo y c) muchos donantes de sangre han sido expuestos al CMV, lo que hace que su sangre sea potencialmente infecciosa.^{1,4,16-19}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo en 1,007 muestras de suero de donantes de sangre y plaquetas, de las cuales 775 fueron de donantes masculinos (76.96%) y 232 de donantes femeninos (23.04%). El rango de edad fue entre 18 a 65 años y todos los donantes acudieron al banco de sangre del Instituto Médico Panamericano S.A. de C.V., durante el periodo comprendido de 1 de julio de 2016 al 31 de julio de 2019.

Simultáneamente a las pruebas para la detección de serología infecciosa de carácter obligatorio estipuladas en NOM-253-SSA1-2012 (para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos), las donaciones de sangre total y plaquetas en este estudio fueron evaluadas adicionalmente en términos de la detección de anticuerpos de clase IgG e IgM anti-CMV a través de la técnica de inmunoanálisis de dos pasos

mediante quimioluminiscencia denominada Chemiflex para el equipo de medición ARCHITECT iSystemMR de ABBOTT. Estas pruebas se realizaron de acuerdo con la especificación del fabricante. De la misma manera se determinaron los valores de corte para ambos anticuerpos, los cuales de acuerdo con el fabricante son los siguientes: IgM anti-CMV < 0.85 S/CO se considera no reactivo, mientras que valores ≥ 1.00 S/CO se considera reactivo; IgG anti-CMV < 6.0 S/CO se considera no reactivo, mientras que valores ≥ 6.0 S/CO se considera reactivo. Por lo tanto, los resultados de IgG e IgM anti-CMV fueron reportados como determinación reactiva y no reactiva de acuerdo con el valor de la titulación del anticuerpo estudiado. Los resultados fueron analizados y se realizaron comparaciones estadísticas utilizando la prueba de χ^2 .

RESULTADOS

En la *Tabla 2* se plasman la frecuencia de anticuerpos clase IgG e IgM anti CMV obtenidos en las 1,007 muestras de suero de donantes de sangre y plaquetas estudiadas en el presente estudio.

En cuanto al grupo de edad, como se puede observar en la *Tabla 3*, el máximo detectado de reactividad para el anticuerpo clase IgM anti-CMV fue para el grupo de edad de 31-40 años con 8 casos (1.10%), mientras que el mínimo fue para el grupo de 41-50 años con 2 casos (0.28%). Para el caso de reactividad de anticuerpo clase IgG anti-CMV, el máximo de casos se presentó en el grupo de edad comprendido entre 31-40 años con 485 casos

Tabla 2: Frecuencia de distribución de anticuerpos anti-CMV en donantes de sangre.

Tipo de anticuerpo	Género	
	Masculino n (%)	Femenino n (%)
Anticuerpo anticítomegalovirus reactivo		
IgG	565 (72.90)	159 (68.53)
IgM	9 (1.16)	1 (0.43)
Anticuerpo anticítomegalovirus no reactivo	201 (25.94)	72 (31.03)
Total	775 (100)	232 (100)

IgG = Inmunoglobulina G; IgM = Inmunoglobulina M.

Tabla 3: Frecuencia de distribución de anticuerpos anticítomegalovirus en donantes de sangre por grupo de edad.

Grupo de edad	Reactividad de los anticuerpos anticítomegalovirus	
	IgM (%)	IgG (%)
18-20		
21-30		58 (8.01)
31-40	8 (1.10)	485 (66.99)
41-50	2 (0.28)	120 (16.57)
51-60		55 (7.60)
61-65		6 (0.83)
Total	10 (1.38)	724 (100)

IgG = Inmunoglobulina G; IgM = Inmunoglobulina M.

(66.99%), mientras que el mínimo de casos se detectó en el grupo de edad comprendido entre los 61-65 años con 6 casos (0.83%).

DISCUSIÓN

La transmisión de enfermedades infecciosas por la administración de sangre o sus derivados se conoce desde el comienzo del uso de la transfusión como medida terapéutica. El aumento notable en la utilización de componentes sanguíneos y sus derivados, el avance en el conocimiento de las enfermedades transmitidas por la sangre y el miedo a desarrollar SIDA después de la transfusión se han convertido en un problema de gran interés público que tiene efectos significativos en la práctica transfusional, así como en la aceptación individual del tratamiento con sangre y hemoderivados en el paciente.²⁰

Como cualquier virus del herpes, el CMV puede ser responsable de infecciones primarias, reactivaciones o reinfecciones en humanos. La CMV-TT ha generado mayor interés en la medicina transfusional debido a que ha sido documentada en una amplia variedad de entornos clínicos, además de su potencial letalidad en receptores de transfusiones seronegativos a CMV inmunodeprimidos. Una gran cantidad de datos circunstanciales sugieren que la infección primaria y la reactivación o reinfección con CMV ocurren con frecuencia después de la transfusión. La incidencia de estas infecciones parece estar relacionada tanto con la cantidad de donantes como con el volumen de sangre y hemoderivados que recibe un paciente.

En la actualidad existen datos muy contradictorios, ya que, por un lado, algunos estudios indican tasas de CMV-TT tan alto como 25%, mientras que otros sugieren esencialmente ningún riesgo. La demanda de sangre segura es una exigencia en la actualidad, por lo que, la incidencia de otras infecciones transmitidas por transfusión como hepatitis B, hepatitis C y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se ha reducido significativamente debido a la estricta selección pre-donación (entrevista, historia clínica y autoexclusión), así como por las pruebas serológicas realizadas posteriormente a la donación para detectar marcadores infecciosos. Sin embargo, por una parte, no es factible reducir la infección por CMV-TT por estas medidas, debido a que el historial clínico del donante no puede discriminar entre portadores y no portadores de CMV, y por la parte, la alta prevalencia de seropositividad para CMV en la población donante ($\geq 90\%$) representa un desafío difícil para los centros la recolección de sangre de donantes seronegativos.

A finales de la década de 1980, se proporcionaban productos sanguíneos seronegativos al CMV para neonatos seronegativos, pacientes con SIDA y receptores de trasplante de células madre, por lo que se convirtió en el estándar de atención, y se demostró así que esta estrategia redujo significativamente la tasa de CMV-TT. De continuar esta estrategia, indudablemente conduciría al descarte innecesario de unidades de sangre y reducirá el inventario, debido a que es difícil mantener suficientes componentes sanguíneos CMV seronegativos, además de que el mantenimiento de «inventarios duales» de hemocomponentes CMV seropositivos y seronegativos es costoso.^{2,5,14,21-23}

Como se ha mencionado previamente, diversos estudios han demostrado que el CMV está latente en las células de linaje de monocitos/macrófagos y que estas células pueden soportar la replicación del virus. Un estudio realizado en 1995 por Bowden y colaboradores demostró que el estado de los pacientes, tras el trasplante de médula ósea al recibir productos sanguíneos leucorreducidos no tenía mayor riesgo de desarrollar infección por CMV en comparación con la sangre recogida de donantes CMV seronegativos conocidos y, por lo tanto, se concluyó que la leucorreducción era la forma más efectiva de minimizar el riesgo de CMV-TT en receptores de alto riesgo. Así comenzó la era de la leucorreducción (los filtros de tercera generación eliminan efectivamente aproximadamente 3-log_{10} de los leucocitos contaminantes en hemoderivados) previamente al almacenamiento de los hemoderivados; sin embargo, incluso transfundiendo sangre leucorreducida de donantes seropositivos se puede transmitir clínicamente enfermedad por CMV relevante

para receptores inmunocomprometidos, aunque a una frecuencia extremadamente más baja. Por esta razón la opción más recomendable es administrar productos sanguíneos seronegativos para CMV, no obstante, esta situación puede ser compleja, además de que la inactivación de patógenos como práctica universal es muy costosa.^{9,10,13,15,21-23}

En la presente investigación, se pudo observar que la frecuencia de infección por CMV activa, determinada mediante la titulación de anticuerpos IgM anti-CMV fue muy baja en la población de donantes estudiada, y alcanzó menos de 2% (1.38%). Cabe hacer mención que estas unidades reactivas a IgM anti-CMV se les dio destino final. Por otra parte, la prevalencia de primoinfección por CMV en la población donante, mediante la titulación de anticuerpo IgG anti-CMV, fue cercana al 72% (71.89%), cifra similar a la reportada en la bibliografía consultada.

REFERENCIAS

1. Safabakhsh H, Karimi G, Tehranian F, Tehranian B. Demography and seroprevalence of cytomegalovirus infection in blood donors in Mashhad in 2009. *J Am Sci*. 2014; 10 (2): 139-142.
2. Drew WL, Roback JD. Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus: reactivation of the debate? *Transfusion*. 2007; 47: 1955-1958.
3. Gutiérrez-Salinas J, Cruz-Tovar L. Estudio de la seroprevalencia de la infección por citomegalovirus a través de la concentración sérica de IgG en un hospital de tercer nivel. *Rev Mex Patol Clin*. 2008; 55 (4): 175-186.
4. Roback JD. CMV and blood transfusions. *Rev Med Virol*. 2002; 12 (4): 211-219.
5. Goldfinger D, Burner JD. You can't get CMV from a blood transfusion: 2017 Emily Cooley award lecture. *Transfusion*. 2018; 58: 3038-3043.
6. Gutiérrez-Salinas J, Carmona-García R, Cruz-Tovar L. Niveles séricos de IgG, IgM y carga viral en sujetos que presentan una infección por citomegalovirus. *Enf Inf Microbiol*. 2008; 28 (4): 136-141.
7. Badami K. G. CMV and transfusions, an old story that's not quite over yet. *Int J Clin Transfus Med*. 2014; 2: 7-19.
8. Gutiérrez-Salinas J, Carmona-García R, Cruz-Tovar L. Concentraciones de IgG e IgM en pacientes con infección por citomegalovirus diagnosticada mediante PCR cualitativa. *Med Int Mex*. 2009; 25 (2): 105-110.
9. Ahmed SA, Al-Joudi FS, Wan Zaidah A, Roshan TM, Rapiaah M, Abdullah YMS et al. The prevalence of human cytomegalovirus seropositivity among blood donors at the unit of blood transfusion medicine, Hospital University Sains Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006; 37 (2): 294-296.
10. Barba-Evia JR. Citomegalovirus y trasplante renal: una combinación peligrosa. *Rev Mex Patol Clin*. 2006; 53 (1): 52-61.
11. Ljungman P. Risk of cytomegalovirus transmission by blood products to immunocompromised patients and means for reduction. *Br J Haematol*. 2004; 125 (2): 107-116.
12. Vujacich C, Vidiella G, Barcelona L, Sturba E, Stamboulia D. Infección por citomegalovirus con compromiso hepático en adultos inmunocompetentes. *Medicina*. 2006; 66: 206-210.

13. Hecker M, Qiu D, Marquardt K, Bein G, Hackstein H. Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors. *Vox Sanguinis*. 2004; 86: 41-44.
14. Das B, Kaur G, Basu S. Seroprevalence of cytomegalovirus antibodies among blood donors and Multitransfused recipients—a study from north India. *Transfus Apher Sci*. 2014; 50 (3): 438-442.
15. Rizvi CB, Raza A, Siddiqui MF, Alam R. Sero-prevalence of human cytomegalovirus among blood donors in Lahore, Pakistan. *Adv Life Sci*. 2015; 2 (4): 171-175.
16. Gutiérrez-Salinas J, Carmona-García R, García-Ortiz L, Chima-Galán MC, Suástegui-Domínguez S, Espinosa-Elizondo RM et al. Detección de infección asintomática por citomegalovirus en donadores voluntarios de sangre. *Med Int Mex*. 2010; 26 (2): 109-115.
17. Rekha S, Chandrasekhara MK, Yeshwanth M. Cytomegalovirus infection acquired through blood transfusions. *Indian Pediatr*. 1995; 32 (5): 575-577.
18. Benson JWT, Bodden SJ, Tobin JOH. Cytomegalovirus and blood transfusion in neonates. *Archives of Disease in Childhood*. 1979; 54: 538-541.
19. Josephson CD, Caliendo AM, Easley KA, Knezevic A, Shenvi N, Hinkes MT et al. Blood transfusion and breast milk transmission of cytomegalovirus in very low-birth-weight infants: a prospective cohort study. *JAMA Pediatr*. 2014; 168 (11): 1054-1062.
20. Yap PL. Transfusion transmitted viral infections-recent developments in blood donor screening. *Postgrad Med J*. 1990; 66: 906-909.
21. Barbara JA, Tegtmeier GE. Cytomegalovirus and blood transfusion. *Blood Rev*. 1987; 1 (3): 207-211.
22. Adler SP. Transfusion-associated cytomegalovirus infections. *Rev Infect Dis*. 1983; 5 (6): 977-993.
23. Nichols WG, Price TH, Gooley T, Corey L, Boeckh M. Transfusion-transmitted cytomegalovirus infection after receipt of leukoreduced blood products. *Blood*. 2003; 101: 4195-4200.



Concordancia entre el análisis morfológico y el inmunofenotipo al momento del diagnóstico y clasificación de leucemias agudas en pacientes pediátricos

Concordance between morphological analysis and immunophenotype at the time of diagnosis and classification of acute leukemia in pediatric patients

Parra-Ortega Israel,* Núñez-Hernández Esmeralda,*[‡] Nájera-Martínez Noemí,*
Mendoza-García Emma,* Cortés-Flores Dolores Catalina,[§] Gaytán-Morales Félix,[§]
Castorena-Villa Iván,[§] López-Martínez Briceida^{||}

Palabras clave:

Morfología,
inmunofenotipo,
leucemia aguda.

Keywords:

Morphology,
immunophenotype,
acute leukemia.

* Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

[‡] Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.

[§] Unidad de Trasplante de Médula Ósea, Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

^{||} Subdirección de Servicios Auxiliares de Diagnóstico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

RESUMEN

Introducción: En el algoritmo de diagnóstico, la evaluación morfológica de la médula ósea representa el primer paso en la vía diagnóstica y es la primera herramienta para distinguir una leucemia. La inmunofenotipificación permite confirmar el linaje y subclasificar las leucemias agudas de acuerdo con el grado de maduración. **Material y métodos:** Con el objetivo de comparar la caracterización morfológica versus inmunofenotipificación de aspirados de médula ósea de pacientes pediátricos con sospecha de leucemia aguda mediante la evaluación morfológica y el análisis por citometría de flujo multiparamétrica (CFM) para determinar el grado de concordancia que existe entre ambos métodos para el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas, se incluyeron un total de 59 pacientes con sospecha de leucemia aguda, clínica y de laboratorio. **Resultados:** El porcentaje de concordancia entre ambos métodos fue de 79.6% y el índice kappa (κ) de 0.352. El coeficiente de correlación fue obtenido mediante morfología y por CFM (52 muestras) al identificar una R^2 de 0.9406. **Conclusiones:** Es necesario realizar el análisis morfológico antes de realizar el inmunofenotipo para clasificar el linaje específico y la etapa de diferenciación de las células leucémicas. Ambos estudios son complementarios y no excluyentes. En los casos de recaída, se debe realizar siempre un nuevo inmunofenotipo y considerarse el mayor número de marcadores celulares en los diferentes linajes hematopoyéticos.

ABSTRACT

Introduction: On the diagnostic algorithm, the morphological evaluation of the bone marrow represents the first step in the diagnostic pathway and is the first tool to distinguish a leukemia, immunophenotyping allows confirming the lineage and subclassifying acute leukemias according to the degree of maturation. **Material and methods:** With the objective of comparing the morphological characterization versus immunophenotyping of bone marrow aspirates of pediatric patients, with suspected acute leukemia, through morphological evaluation and analysis cytometric flow multiparameter (CFM) to determine the degree of concordance that exists between both methods for the diagnosis and classification of acute leukemia, a total of 59 patients with clinical and laboratory suspicion of acute leukemia were included. **Results:** The percentage of agreement between both methods was 79.6% and the kappa index (κ) of 0.352. The correlation coefficient obtained by morphology and by CFM (52 samples) is R^2 of 0.9406. **Conclusions:** It is necessary to perform the morphological analysis, before performing the immunophenotype to classify the specific lineage and the stage of differentiation of the leukemic cells, both studies are complementary and not exclusive. In cases of relapse, a new immunophenotype should always be performed considering the highest number of cell markers in the different hematopoietic lineages.

Recibido:
21/09/2019
Aceptado:
09/01/2020

Correspondencia:

**Briceida López
Martínez**

Subdirección de
Servicios Auxiliares de
Diagnóstico,
Hospital Infantil de
México «Federico
Gómez»

Dr. Márquez

Núm. 162,

Col. Doctores, 06720,
Alcaldía Cuauhtémoc,
CDMX.

Tel: 5552289917,

ext. 9022

E-mail: brisalopezmtz
@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas (LA) son el producto de cambios moleculares en una célula precursora hematopoyética.¹ Estas leucemias se asocian con una gran morbilidad y una supervivencia estimada de 60 a 70% en países en vías de desarrollo además de que constituyen las neoplasias más frecuentes en la edad pediátrica en nuestro país y, en América Latina, tienen una mayor incidencia.² Se pueden clasificar mediante el análisis morfológico y citoquímico según lo propuesto por el grupo Franco-Americano-Británico (FAB), también mediante inmunofenotipificación de acuerdo con el Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) y, basándose en la presentación clínica del paciente, morfología, inmunofenotipo y estudios citogenéticos y moleculares, según la Organización Mundial de la Salud (OMS).³

Actualmente, la clasificación FAB sigue siendo un sistema para describir las LA.⁴ En el algoritmo de diagnóstico, la evaluación morfológica de la médula ósea representa el primer paso en la vía diagnóstica⁵ y es la primera herramienta para distinguir una leucemia linfoblástica aguda (LLA) de una leucemia mieloide aguda (LMA).^{6,7} La inmunofenotipificación permite confirmar el linaje y subclasificar la LA de acuerdo con el grado de maduración. Estos análisis se realizan de manera rápida, pues realizar el diagnóstico oportuno permite tratar inmediatamente al paciente, ya que las LA son fatales si no se tratan a tiempo. El análisis morfológico revela los porcentajes de blastos, bastones de Auer y presencia de mielodisplasia en las células.⁸ La citometría de flujo multiparamétrica (CMF) permite medir diferentes parámetros de una célula (tamaño, complejidad y expresión de antígenos), y de esta manera es posible caracterizar una célula por su fenotipo,⁹ lo que lleva a una mejor identificación de las poblaciones anormales.¹⁰

El análisis morfológico y la inmunofenotipificación por citometría de flujo multiparamétrica son los métodos que se emplean de manera inicial en el diagnóstico de estas neoplasias. Estos métodos se realizan de manera rápida y, con la información que ambos proporcionan, se realiza el diagnóstico oportuno, lo que

permite otorgar el tratamiento al paciente y de esta manera lograr la remisión de la enfermedad. Por lo anterior, es importante describir la concordancia entre ambos procedimientos considerando los criterios analíticos que regulan cada procedimiento o proceso en el diagnóstico y clasificación de las leucemias en niños.

MATERIAL Y MÉTODOS

Con el objetivo de comparar la caracterización morfológica versus inmunofenotipificación de aspirados de médula ósea de pacientes pediátricos con sospecha de leucemia aguda mediante la evaluación morfológica y el análisis por citometría de flujo multiparamétrica para determinar el grado de concordancia que existe entre ambos métodos para el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas, se incluyeron un total de 59 pacientes con sospecha clínica y de laboratorio de leucemia aguda en el Hospital Infantil de México «Federico Gómez».

Como parte de su abordaje diagnóstico, a los pacientes se les realizó el aspirado de médula ósea (MO), el cual se colocó en un tubo con EDTAK2 para realizar el análisis morfológico e inmunofenotípico.

El análisis morfológico se realizó de la siguiente forma

Se mezcló la muestra por inversión de ocho a diez veces, se colocó una gota de aspirado en el centro de un portaobjetos, otro portaobjetos se colocó sobre la gota y se ejerció una presión muy suave; los portaobjetos se separaron uno del otro en direcciones opuestas, se dejó que el extendido se secase al aire libre y se visualizó macroscópicamente para valorar la calidad del extendido.

Una vez secos, los extendidos se tiñeron con el colorante de Wright; se colocaron en una charola de tinción y sobre la preparación se colocó el colorante de Wright de manera que cubriera todo el extendido. Se dejó actuar el colorante por cinco minutos, posteriormente se agregó buffer de fosfatos (pH 6.4) en una cantidad similar al del colorante agregado y se mezclaron ambos reactivos utilizando una pipeta Pasteur; se dejó actuar otros 10 minutos, se eliminó la mezcla del colorante con buffer

e inmediatamente se lavó el portaobjetos con agua corriente cuidando que los grumos medulares (cuando estaban presentes) no se despegaran del portaobjetos. Se limpió la parte posterior del portaobjetos y se dejó secar la preparación al aire libre inclinando el portaobjetos.

La evaluación de un aspirado de MO se realizó con el objetivo de mayor aumento (100x). A medida que se realizaba el mielograma, se examinaron las características morfológicas de las células como tamaño, relación núcleo/citoplasma (N:C), apariencia de la cromatina, presencia, tamaño y cantidad de nucléolos; forma y tamaño del núcleo y características de su borde (regular o con hendiduras), color del citoplasma, presencia de gránulos en el citoplasma y sus características (cantidad, tamaño, forma y color). También se examinó la presencia de vacuolas, presencia de cuerpos o bastones de Auer (cantidad y agrupación) u otras inclusiones citoplasmáticas; características del contorno de la membrana¹¹ y asincronía en la maduración.

Se realizó el conteo diferencial de todas las células nucleadas: blastos, promielocitos, mielocitos (neutrófilo y eosinófilo), metamielocitos (neutrófilo y eosinófilo), bandas (neutrófilo y eosinófilo), neutrófilos segmentados, eosinófilos, basófilos, promonocitos, monocitos, linfocitos, células plasmáticas, proeritroblastos, eritroblastos (basófilos, policromáticos y ortocromáticos) y mastocitos. En el conteo diferencial no se incluyeron las células rotas, los megacariocitos ni los macrófagos.¹² Esto se realizó en 500 células y se contaron en dos extendidos (dos casos se contaron en un solo extendido). Se determinó el promedio de cada célula encontrada en ambos frotis y se calculó el porcentaje de cada una.

Determinación de la relación mieloide:eritroide (M:E). Se sumaron todas las células mieloides y por separado se sumaron todos los precursores eritroides. Finalmente se dividió el número de células mieloides entre el número de precursores eritroides.

Asignación del subtipo morfológico. Se asignó el subtipo de leucemia aguda de acuerdo con los criterios establecidos por el grupo FAB. El porcentaje de blastos para definirla como positiva fue $\geq 20\%$ sobre el total de células nucleadas (TCN), cuando se realizaba por primera vez el diagnóstico (de acuerdo con la clasificación de la OMS) y, $> 5\%$ sobre el TCN cuando se trataba de recaída (ver criterios clasificación en el caso de LMA en la *Tabla 1*).

Control de calidad de los extendidos. De acuerdo con D'Onofrio y col.,¹¹ una buena calidad de la preparación implica que la celularidad sea adecuada para que la mayoría de las células se encuentren intactas y que la tinción sea adecuada para que sea posible apreciar detalles celulares. Para asegurar esto, se realizó lo siguiente:

si había gran cantidad de precipitado del colorante en la muestra, se realizaban otros extendidos y se teñían de manera que el colorante no se evaporara. Cuando había gran cantidad de células rotas o gran cantidad de células no teñidas, se descartaban dichos extendidos para su lectura y se evaluaban los demás. En caso de que también se encontraran las mismas características en los últimos, se realizaban otros extendidos de manera cuidadosa para descartar que los frotis anteriores se hubieran realizado de manera incorrecta. En caso de que estos hallazgos siguieran presentándose, se empleaban colorantes y buffer de diferente lote del utilizado anteriormente (en caso de células no teñidas) o bien, otro personal del laboratorio realizaba el extendido (cuando había abundantes células destruidas). Si las células en estos últimos frotis no se encontraban destruidas se realizaba la lectura en éstos, pero si las células seguían destruidas y no se teñían, la muestra se descartaba para su evaluación morfológica.

Obtención de información del inmunofenotipo y de parámetros hematológicos

De los 59 casos incluidos en este estudio, se revisaron los marcadores celulares que expresaron los blastos, además se determinó el porcentaje de estas células empleando la expresión de CD45 versus la gráfica de complejidad (SSC por sus siglas en inglés) y su viabilidad en el citómetro de flujo BD FACSCanto II.

Para la subclasificación inmunológica se emplearon los criterios y el sistema de puntuación del Grupo Europeo de Clasificación Inmunológica de Leucemias (EGIL). Se consideró como positivo cuando la expresión de un antígeno en las células fue $> 20\%$. Véase las *Tablas 2 y 3* para conocer la puntuación de los criterios EGIL y la forma de clasificar a las leucemias de linaje ambiguo (LALA).^{4,6,13,14}

El punto de corte para considerar un marcador como positivo es de al menos 20%, excepto para los marcadores MPOx, CD3, CD79a y TdT, los cuales con un mínimo de 10% de positividad ya se consideran como positivos.

Basados en este sistema de puntuación, se han descrito cuatro subtipos principales de LALA: B/mieloide, T/mieloide, B/T linfoide, y la leucemia de trilineaje (presencia de marcadores mieloides, B y T).

En el caso de una LALA, el valor del puntaje es de > 2 para el linaje mieloide y > 1 para el linaje linfoide. Si no se cumplen estos criterios, se considera como expresión aberrante del antígeno o infidelidad de linaje.

De la bitácora del laboratorio de citometría de flujo se recolectaron los datos del conteo leucocitario, plaquetario y concentración de hemoglobina de todos los pacientes en este estudio.

Tabla 1: Características morfológicas y morfométricas utilizadas en la clasificación de las LMA de acuerdo con el grupo cooperativo FAB.

Subtipo FAB	Denominación	Morfología
M0	Mieloblástica aguda mínimamente diferenciada	MO: > 90% de blastos. Éstos no desarrollan las características morfológicas mieloides (son muy indiferenciados). Son redondos de tamaño pequeño a mediano con núcleo excéntrico. El núcleo a veces es lobulado o escindido, con cromatina fina y uno o varios nucléolos. El citoplasma es ligeramente basófilo sin gránulos. No se observan cuerpos de Auer
M1	Mieloblástica aguda sin maduración	MO: > 30% de TCN y > 90% de las CNE son mieloblastos. < 10% de maduración de las series granulocíticas más allá del estadio de promielocito El mieloblasto es poco diferenciado, de tamaño mediano, con elevada relación N:C, contorno nuclear redondeado, cromatina laxa con presencia de uno o varios nucléolos prominentes. Pueden presentar una fina granulación azurófila, o algún bastón de Auer en el citoplasma (bastones de Auer se encuentran en 50% de los blastos). Si no hay evidencia de gránulos o bastones de Auer, los blastos pueden parecerse al linfoblasto L2
M2	Mieloblástica aguda con maduración	MO: > 30% de TCN y < 90% de CNE son mieloblastos; hay maduración más allá del estadio de promielocito en > 10% de las CNE; < 20% de monocitos. Los blastos son pequeños o medianos, con cantidad variable de citoplasma y un perfil nuclear redondeado, que a veces adopta una posición cuadrangular respecto al citoplasma; la cromatina es laxa, con uno o varios nucléolos. El citoplasma es basófilo y puede contener granulación primaria azurófila, u ocasionalmente algún bastón de Auer. Pseudo Pelger-Hüet y neutrófilos hipogranulares son las células más comunes Los casos con hiperplasia eritroide (pero < 50% de eritroblastos) sin las anomalías morfológicas de la eritroleucemia se incluyen en este grupo
M3	Promielocítica hipergranular	MO: > 30% de promielocitos anormales con abundantes gránulos citoplasmáticos que se tiñen de color rosa brillante, rojo o púrpura con la tinción de Romanowsky. Se hallan numerosos cuerpos de Auer, a menudo apilados (células en «haces», en inglés «faggot»). Los núcleos con frecuencia son reniformes o bilobulados con la presencia de una hendidura profunda o de perfil irregular. SP: leucocitos disminuidos
M3v	Promielocítica variante microgranular	MO: promielocitos con gránulos tan pequeños que no se distinguen con el microscopio óptico, núcleo profundamente indentado con citoplasma claro abundante y gránulos similares a polvo observados en una localización excéntrica cerca del núcleo A menudo se confunde con la M5 SP: suele cursar con leucocitosis
M4	Mielomonocítica aguda	MO: > 30% de blastos de TCN y > 20% de CNE son de componente monocítico (monoblastos, promonocitos y monocitos). Hay diferenciación granulocítica y monocítica. La proporción de células monocíticas no excede 80% de las CNE. Los monoblastos son de gran tamaño, moderada relación N:C y basofilia variable con eventuales mamelones en el citoplasma. El núcleo puede ser redondeado, arriñonado o de forma irregular. Los nucléolos son prominentes Mieloblastos, promielocitos y otros granulocitos posteriores comprenden entre 30 y 80% de las CNE. Bastón de Auer ±
M4E	Mielomonocítica aguda con eosinofilia	MO: ≥ 5% eosinófilos con núcleos monocitoides y pueden ser híbridos con gránulos basófilos; componente monocítico > 20%, pero < 80%
M5A	Monocítica aguda mal diferenciada	MO: > 30% de blastos de TCN y > 80% monoblastos. Estas células presentan una cromatina laxa, nucléolos prominentes y brotes o pseudópodos en la membrana citoplasmática, que es de basófila oscura a gris; puede contener gránulos azurófilos finos. Los brotes pueden ser más translúcidos que el resto del citoplasma y esto da la apariencia de una doble membrana. Por el aspecto indiferenciado se puede confundir con la M1. < 20% granulocitos

Continúa la Tabla 1: Características morfológicas y morfométricas utilizadas en la clasificación de las LMA de acuerdo con el grupo cooperativo FAB.

Subtipo FAB	Denominación	Morfología
M5B	Monocítica aguda diferenciada	MO: < 80% de las células son monoblastos, promonocitos (predominan) y monocitos. Los promonocitos presentan núcleos redondos o cerebriformes y pueden tener nucléolos, el citoplasma color gris translúcido (menos basófilo que del monoblasto) con aspecto de vidrio esmerilado, con gránulos azurófilos y con presencia de alguna vacuola SP: % elevado de monocitos
M6	Eritroleucemia aguda	MO: > 50% de células son precursores eritroides de TCN. > 30% de CNE son mieloblastos tipo I o tipo II. Los precursores eritroides a menudo son morfológicamente anormales. Es común la presencia de precursores multinucleados. Pueden presentar cuerpos de Howell-Jolly, puede haber vacuolas perinucleares en los proeritroblastos y en los eritroblastos basófilos. Los cambios megaloblásticos y la diseritropoyesis son frecuentes Única LMA con hiperplasia de precursores eritroides. Con frecuencia un SMD precede a una M6 (mielosis eritrémica)
M7	Megacarioblástica	MO: > 30% de megacarioblastos de TCN. El tamaño de éstos es heterogéneo, muestran un aspecto morfológico muy inmaduro y son muy polimórficos, algunos tienen el tamaño del linfoblasto L1 con citoplasma escaso, mientras que otros son tres veces más grandes. El núcleo es excéntrico, de cromatina laxa y reticulada con 1 a 3 nucléolos prominentes. El citoplasma es basófilo y agranular y muestra un aspecto muy similar a las plaquetas circulantes con presencia de mamelones o pseudópodos Pueden observarse megacariocitos. La biopsia de MO muestra aumento de fibroblastos y/o aumento de reticulina

TCN = Todas las células nucleadas de la MO; CNE = Células no eritroides; MO = Médula ósea; SP = Sangre periférica; N:C = Núcleo citoplasma.^{4,6,13,14}

Plan de análisis estadístico

Se compararon los resultados obtenidos por ambos métodos y se calculó el grado de concordancia mediante la tabla de contingencia 2 x 2 y mediante el índice kappa (κ); también se calculó la sensibilidad, especificidad y valor de predicción positivo y negativo. Para el análisis estadístico de las diferentes determinaciones se empleó el programa GraphPad Prism® 6.01 para Mac OS X.

RESULTADOS

Evaluación de la calidad de la muestra

Se recibieron un total de 59 muestras del mismo número de pacientes. Para evaluar la calidad de las muestras se efectuó una inspección macroscópica antes de realizar los extendidos de todas las muestras. Siete fueron las muestras que macroscópicamente presentaban una apariencia viscosa y en las que se observaron coágulos, microscópicamente se observó una gran cantidad

de células destruidas. Adicionalmente, algunos casos presentaban finos precipitados color violeta que se encontraban en toda la extensión. Otras nueve muestras que macroscópicamente presentaba alguna alteración (presencia de pequeños coágulos o viscosa), microscópicamente, sin embargo, se observó una cantidad adecuada de células intactas.

Las características evaluadas de las muestras se resumen en las Tablas 4 a 6, y la valoración de la calidad de las muestras se agrupó de la siguiente forma, basados en el área de lectura:

- A: ausente; N/A: no aplica.
- B: buena distribución de las células, no se encuentran tan separadas ni se superponen. La mayoría de las células se encuentran íntegras (se logran observar sus características).
- B*: buena distribución celular, la mayoría de las células se encuentran íntegras. Se observan los bastones de Auer en los blastos.
- C: la mayoría de las células se encuentran íntegras, se observan los abundantes bastones de Auer y grá-

nulos azurófilos y naranjas que se encuentran en los promielocitos.

- D: la mayoría de las células se encuentran íntegras y se observan escasos gránulos primarios en una cantidad muy baja de blastos.
- E: abundantes células destruidas y presencia de finos precipitados color violeta.
- F: abundantes células rotas, presencia de mallas de fibrina y eritrocitos crenados.

- G: presencia de finos precipitados color violeta.
- H: abundantes células rotas y presencia de coágulos y fibrina.
- I: abundantes células rotas y presencia de mallas de fibrina en toda la extensión.

Tabla 2: Sistema de puntuación EGIL para definir una LA.

Puntos	Linaje		
	Linfoide B	Linfoide T	Mieloide
2	CD79a cyIgM cyCD22	CD3 (cy/s) Anti-TCR α/β Anti-TCR γ/δ	MPOx Anti-lizosima
1	CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8	CD13 CD33 CD65 CD117
0.5	TdT CD24	TdT CD7 CD1a	CD14 CD15 CD64 CD11b CD11c

Cy = Citoplásmico; s = superficial; MPOx = Mieloperoxidasa; TdT = Desoxinucleotidil transferasa terminal.^{4,6,13,14}

Concordancia obtenida entre el análisis morfológico e inmunofenotípico

De las 59 muestras analizadas, 47 coincidieron al emplear ambos métodos y 12 fueron discordantes, tal como se detalla en la *Tabla 6*. El análisis en la tabla de cuatro entradas se describe en la *Tabla 7* y los resultados del desempeño en la *Tabla 8*.

El porcentaje de concordancia entre ambos métodos fue de 79.6% y el índice kappa (κ) de 0.352 (aceptable de acuerdo con la valoración del índice kappa).

Se determinó la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de la morfología. Estos resultados se muestran en la *Tabla 8*.

Los casos de LLA que concordaron en ambos métodos fueron 38 (73.07%), de los cuales por morfología 14 (36.8%) correspondieron al subtipo LLA-L1 y 24 (63.2%) al subtipo LLA-L2. Dos casos que por inmunofenotipo fueron pro-B, presentaron una LLA-L2; los pre-B común presentaron una morfología tanto de tipo L1 (13 casos) como de L2 (19 casos) y dos casos pre-B morfológicamente fueron L2. En cuanto a las LLA-T, un caso presentó una morfología de tipo L1 y el otro una L2.

Cuatro casos de LMA fueron concordantes en ambos métodos, por morfología se encontraron cinco casos: LMA-M1 (un caso), LMA-M2 (tres casos) y LMA-M3 (un caso). Por inmunofenotipo se descartó una LMA-M2, la cual resultó ser una LALA (con expresión de células T/mieloide).

Tabla 3: Clasificación inmunológica de las LLA de acuerdo con el grupo EGIL.

Linaje	Subtipo EGIL	Marcador
B	Pro-B	HLA-DR+, TdT+, CD34+, CD19+ y/o CD22+ y/o CD79a+, CD10-
	Pre-B común	HLA-DR+, TdT+, CD34+, CD19+ y/o CD22+ y/o CD79a+, CD10+
	Pre-B	HLA-DR+, TdT+, CD34-, CD19+ y/o CD22+ y/o CD79a+, cyIg μ , CD20 ^{het}
	Madura	HLA-DR+, TdT-, CD34-, CD19+ y/o CD22+ y/o CD79a+, cyIg μ , sIg μ
T	Pro-T	CD7 +
	Pre-T	CD7+, cyCD3+, CD5+, CD2 +/-
	T-Cortical	CD7+, cyCD3+, CD1a+, sCD3+/-, CD5+, CD2+, CD4+, CD8+
	T-madura	CD7+, cCD3+, sCD3+, CD2+, CD4 o CD8+
LLA + My	LLA con infidelidad de linaje	LLA con uno o dos marcadores mieloides

cyIg μ = cadena *mu* citoplásmica de la IgM; CD20 (antígeno de diferenciación restringido a los linfocitos B humanos); het: heterogéneo.^{5,6}

Tabla 4: Evaluación macroscópica, microscópica y evaluación mediante CFM del aspirado de médula ósea de pacientes pediátricos con sospecha de leucemia aguda.

Núm.	% Viabilidad (CFM)	Observación macroscópica		Observación microscópica	
		Característica	Grumo medular (10x)	Megacariocitos (10x)	Área de lectura (100x)
1	80	Normal	1/extendido	0.1/campo	B
2	-	Normal	A	A	B
3	69.8	Ligeramente viscosa		A	E
4	84	Normal	A	A	B
5	93.2	Normal	A	2/extendido	B
6	74.2	Normal	A	A	B
7	88.9	Normal	A	A	B
8	64.3	Normal	A	A	B
9	87.4	Normal	A	A	B
10	90.8	Normal	A	A	B
11	83.1	Normal	A	A	B
12	92.3	Frotis remitido por el hospital	21/extendido	0.1/campo	B
13	81.3	Normal	A	3 núcleos desnudos/extendido	B
14	86.6	Normal	A	3 núcleos desnudos/extendido	B
15	87.9	Normal	A	0.1/campo	B
16	91	Normal	A	A	B
17	98.7	Viscosa	A	0.1/campo	B
18	93	Normal	A	A	B
19	89	Normal	A	A	B
20	46.1	Normal	A	A	B
21	92	Normal	A	A	B
22	87	Viscosa, presencia de coágulos pequeños	A	A	B
23	90	Viscosa	A	2/extendido	B
24	88.2	Normal	A	1/extendido	B
25	93.4	Normal	1/extendido	5/extendido	B
26	89	Normal	7/extendido	0.1/extendido	B
27	75	Normal	A	4/extendido	B
28	83.6	Normal	A	A	B
29	93.6	Normal	A	A	B
30	87.2	Normal	A	1/extendido	B
31	-	Presencia de coágulo pequeño	A	1/extendido	B
32	-	Normal	A	A	B
33	-	Normal	A	A	B
34	-	Normal	A	A	B
35	84	Viscosa	A	A	B
36	73.5	Viscosa, presencia de fibrina	A	A	I

Continúa la Tabla 4: Evaluación macroscópica, microscópica y evaluación mediante CFM del aspirado de médula ósea de pacientes pediátricos con sospecha de leucemia aguda.

Núm.	% Viabilidad (CFM)	Observación macroscópica		Observación microscópica	
		Característica	Grumo medular (10x)	Megacariocitos (10x)	Área de lectura (100x)
38	90.4	Normal	A	2/extendido	B
39	-	Viscosa	A	A	B
40	-	Viscosa, presencia de fibrina	-	-	I
41	87	Ligeramente viscosa	A	A	B
42	94	Presencia de coágulo pequeño	3/extendido	4.8/campo	B
43	90	Normal	N/A (s.p.)	N/A (s.p.)	B
44	64	Viscosa, presencia de coágulos de diferentes tamaños	A	A	F
45	95	Normal	A	A	B*
46	92	Normal	A	A	C
47	89	Normal	A	A	D
48	-	Normal	2/extendido	2/extendido	B*
49	79	Normal	A	A	B
50	-	Normal	A	A	G
51	-	Viscosa, presencia de coágulos	-	-	H
52	-	Viscosa, presencia de coágulos	-	-	H
53	76.5	Normal	1/extendido	3/extendido	B
54	88	Normal	1/extendido	0.1/campo	B
55	93.8	Normal	A	1/extendido	B
56	80	Normal	A	A	B
57	72.4	Normal	A	1/extendido	B
58	93	Viscosa, presencia de coágulos pequeños	A	A	B
59	50	Normal	A	A	B

En las LALA identificadas en este estudio (cuatro casos) se observaron las siguientes características morfológicas: 1) la LALA que expresaba marcadores de células B/mieloide morfológicamente se presentó como LLA-L2; 2) la LALA expresaba marcadores de células T/mieloide y morfológicamente se caracterizó como una LMA-M2; 3) los dos casos de LALA expresaba marcadores de células B/T. Morfológicamente no se logró identificar o caracterizar un linaje celular (mala calidad de la muestra).

Dos de los casos estudiados, que fueron referenciados con el diagnóstico de recaída por morfología, fueron positivos debido a que se encontró un porcentaje

de blastos > 5% (12 y 10.4%) en ambas muestras, sin embargo, no se logró distinguir el linaje específico al que pertenecían; por CFM se determinó un porcentaje de blastos mucho menor, el cual fue de 0.4% y 2% respectivamente; además, las muestras presentaron una expresión de sus antígenos de manera normal al identificar estadios normales de diferenciación. Con estos resultados, los casos se consideraron como normales y se descartó la posible recaída que se sospechó mediante el análisis morfológico (falsos positivos). Estos dos casos más otros cinco fueron determinados como normales mediante CFM, lo que dio un total de siete muestras

normales, mientras que por morfología en seis casos se determinó que no se trataba de una LA; uno de estos seis fue descartado como normal debido a que por CFM se diagnosticó una LLA de linaje B (Pre-B común). De manera que solamente cinco casos fueron concordantes en ambos métodos para descartar una LA.

En siete casos por morfología no se logró identificar la presencia de células leucémicas (muestras con mala calidad para el análisis morfológico), sin embargo, en el inmunofenotipo por CFM fueron positivas para LA.

Correlación entre el valor de blastos obtenidos por morfología y por citometría de flujo multiparamétrica

Se calculó el coeficiente de correlación con el valor de blastos obtenidos mediante morfología y por CFM

(52 muestras) y se identificó una R² de 0.9406, lo cual muestra una buena correlación entre ambos métodos. Como se puede apreciar en la *Figura 1*, en la mayoría de los casos los puntos no se encuentran tan alejados de la línea de regresión.

Subtipos de leucemia aguda obtenidos mediante inmunofenotipificación

De la población estudiada y de acuerdo con los resultados del análisis inmunofenotípico (*Figura 2*).

De acuerdo con el perfil inmunofenotípico, de los 41 casos de LLA-B, tres (7.3%) correspondieron al subtipo pro-B, 35 (85.4%) al pre-B común y tres (7.3%) al subtipo pre-B.

En cuanto a las LALA, un caso (25%) las células expresaban marcadores de células B/mieloide, un caso (25%)

Tabla 5: Características del perfil inmunofenotípico de las leucemias agudas de los pacientes incluidos en este estudio.

Núm.	Perfil inmunofenotípico	Clasificación	
		EGIL	FAB
1	CD34+, CD123+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+, CD15+, CD66c+	Pro-B	LLA-L2
2	CD34+, CD123+, CD22+, CD19+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+, CD15+, CD66c+	Pro-B	S/Dx
3	CD34+, CD79a+, CD19+, CD38+, CD9+, CD81+, CD58+, CD13+	Pro-B	LLA-L2
4	CD34+, CD123+, HLA-DR+, TdT+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD21+, CD66c+, CD11b+, CD16+, CD71+	Pre-B común	LLA-L2
5	CD34+, CD123+, TdT+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
6	CD34+, CD123+, TdT+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+, CD13+, CD66c+, CD15+	Pre-B común	LLA-L1
7	CD34+, CD123+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, λ+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
8	CD34+, CD123+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
9	CD34+, CD123+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD81+, CD20+	Pre-B común	LLA-L2
10	CD34+, CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L1
11	CD34+, CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, λ+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
12	CD34+, CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L1
13	CD34+, CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
14	CD34+, CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD24+, CD81+, CD58+	Pre-B común	LLA-L1
15	CD34+, CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+	Pre-B común	LLA-L1
16	CD34+, CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+	Pre-B común	LLA-L2
17	CD34+, CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9, CD24+, CD20+, CD58+	Pre-B común	LLA-L1
18	CD34+, CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2

Continúa la Tabla 5: Características del perfil inmunofenotípico de las leucemias agudas de los pacientes incluidos en este estudio.

Núm.	Perfil inmunofenotípico	Clasificación	
		EGIL	FAB
19	CD34+, CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD20+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
20	CD34+, CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L1
21	CD34+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD20+	Pre-B común	LLA-L1
22	CD34+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+	Pre-B común	LLA-L2
23	CD34+, TdT+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+	Pre-B común	LLA-L2
24	CD34+, TdT+, CD19+, CD10+, CD22+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L1
25	CD34+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD20+, CD58+	Pre-B común	LLA-L2
26	CD34+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+	Pre-B común	S/Dx
27	CD34+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+	Pre-B común	LLA-L2
28	CD34+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+	Pre-B común	LLA-L1
29	CD34+, CD38+, CD10+ (8%) /CD34-, CD38+, CD10+ (2%)	Pre-B común	NO LA
30	CD123+, TdT+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L2
31	CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, λ+, CD58+,	Pre-B común	LLA-L2
32	CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+	Pre-B común	LLA-L2
33	CD123+, CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	S/Dx
34	TdT+, CD10+, CD38+	Pre-B común	LLA-L1
35	CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD81+, CD20+, CD58+	Pre-B común	LLA-L1
36	CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+	Pre-B común	LLA-L2
37	CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+	Pre-B común	LLA-L2
38	CD22+, CD19+, CD10+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD20+, CD58+, CD66c+	Pre-B común	LLA-L1
39	CD34+, CD22+, CD79a+, CD19+, cyIgM+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD10+, CD58+, CD15+	Pre-B	S/Dx
40	CD123+, CD22+, CD79a+, CD19+, cyIgM+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, CD10+, CD20+, λ+, CD66c+	Pre-B	LLA-L2
41	CD22+, CD79a+, CD19+, cyIgM+, CD38+, CD9+, CD24+, CD81+, λ+, CD58+, CD15+	Pre-B	LLA-L2
42	cyCD3+, CD2+, CD5+, CD7+	LLA-T	LLA-L1
43	cyCD3+, sCD3+, CD7+	LLA-T	LLA-L2
44	cyCD3+, sCD3+, CD8+, CD7+, CD10+	LLA-T	S/Dx
45	CD34+, CD123+, CD117+, HLA-DR+, MPox-, CD33+, CD38+, CD7+, CD19+, CD105+	Mieloide	LMA-M1
46	CD34+, CD117+, HLA-DR+, MPox+, CD13+, CD33+, CD15+, CD64+, CD16+, CD38+, CD71+	Mieloide	LMA-M2
47	CD34+, CD117+, HLA-DR+, MPox+, CD13+, CD33+, CD38+, CD7+, CD71+	Mieloide	LMA-M2
48	CD34+, CD117+, MPox+, CD13+, CD33+, CD64+	Mieloide	LMA-M3
49	CD34+, CD58+, CD38+, CD9+, CD81+, [CD22+, CD19+, CD10+, CD24+ (4.5 puntos)] CD13+, CD33+ (2 puntos)	LA B/mieloide	LLA-L2
50	CD34+, CD123+, HLA-DR+, CD38+, cyCD3+, CD7+ (2.7 puntos) CD11b+, CD16+, CD35+, [MPox+, CD13+, CD33+, CD117+, CD14+, CD15+, CD64+ (6.5 puntos)] CD71+, CD36+	LA T/Mie-loide	LMA-M2
51	CD34+, CD123+, CD38+, CD58+, CD9+, CD81+, [CD22+, CD79a+, CD19+, CD10+, CD24+ (6.5 puntos)] suCD3+, CD7+ (2.5 puntos) CD66c+	B/T	S/Dx
52	CD34+, CD38+, CD9+, [CD22+, CD79a+, cyIgM+, CD19+, CD10+ (8 puntos)] cyCD3+ (2 puntos)	B/T	S/Dx

S/Dx = Sin diagnóstico, muestra de mala calidad; LA = Leucemia aguda; MPox = Mieloperoxidasa.

la expresión de sus marcadores fue de células T/mieloide y dos (50%) correspondieron marcadores de células B/T.

Resultados epidemiológicos

De acuerdo con el género, se encontró una mayor prevalencia en pacientes masculinos (31 casos, 59.6%) que en pacientes femeninos (21 casos, 40.4%).

De acuerdo con la edad, se encontraron pacientes desde uno hasta 17 años, con una edad promedio de 7.7; el rango donde se encontraron más casos de leucemia fue de cinco a nueve años (38.5%) seguido de pacientes de uno a cuatro años (26.9%). No se encontraron pacientes menores de un año que cursaran con leucemia, sólo

se presentó un paciente con el dato de edad sin referir (S/D) (Figura 3).

Resultados de parámetros hematológicos

De acuerdo con el conteo leucocitario, la media fue de 88.7×10^3 leucocitos/ μL ($2-433.4 \times 10^3$ leucocitos/ μL); solamente se encontró un caso que cursaba con leucopenia (2×10^3 leucocitos/ μL), nueve (17.3%) se encontraron dentro del rango normal y el resto presentó leucocitosis (19% cursó con hiperleucocitosis) (Tabla 9).

La media de la concentración de hemoglobina fue de 8.9 g/dL (3.2-14.2 g/dL), 82.7% de los pacientes presentó anemia.

Tabla 6: Característica de las muestras de médula ósea de los pacientes pediátricos con sospecha de LA diagnosticados por morfología e inmunofenotipificación.

Núm.	Género	Edad (años)	Análisis morfológico		Análisis inmunofenotípico		Concordancia
			% Blastos	Clasificación FAB	% Blastos	Clasificación EGIL	
1**	F	13	23.5	LLA-L2	12.7	Pro-B	Concordante
2**	F	17	89.8	LLA-L2	91.6	Pro-B	Concordante
3	F	7	-	S/Dx	63.9	Pro-B	Discordante (A)
4	M	4	87.6	LLA-L1	63.0	Pre-B común	Concordante
5	M	2	94.8	LLA-L1	78.0	Pre-B común	Concordante
6	M	3	90.4	LLA-L1	74.2	Pre-B común	Concordante
7	M	4	84.4	LLA-L2	67.5	Pre-B común	Concordante
8	F	4	70.2	LLA-L1	58.3	Pre-B común	Concordante
9	F	5	93.0	LLA-L2	77.6	Pre-B común	Concordante
10	F	6	70.4	LLA-L1	70.7	Pre-B común	Concordante
11	F	5	80.3	LLA-L2	64.0	Pre-B común	Concordante
12	F	7	86.2	LLA-L2	80.0	Pre-B común	Concordante
13	F	14	94.1	LLA-L2	74.5	Pre-B común	Concordante
14	F	5	86.9	LLA-L2	76.2	Pre-B común	Concordante
15	M	16	87.5	LLA-L2	82.6	Pre-B común	Concordante
16	M	4	80.0	LLA-L2	80.5	Pre-B común	Concordante
17	F	11	58.6	LLA-L2	61.8	Pre-B común	Concordante
18	M	12	29.0	LLA-L2	25.5	Pre-B común	Concordante
19	M	5	88.7	LLA-L1	72.6	Pre-B común	Concordante
20	M	14	35.2	LLA-L1	12.1	Pre-B común	Concordante
21	F	1	81.0	LLA-L1	74.4	Pre-B común	Concordante
22	F	5	84.7	LLA-L2	62.5	Pre-B común	Concordante
23**	F	15	87.4	LLA-L1	82.3	Pre-B común	Concordante
24	M	3	77.4	LLA-L2	65.2	Pre-B común	Concordante
25	F	5	86.0	LLA-L1	77.6	Pre-B común	Concordante
26**	M	9	97.9	LLA-L2	88.1	Pre-B común	Concordante
27	F	9	85.6	LLA-L2	66.7	Pre-B común	Concordante

Continúa la Tabla 6: Característica de las muestras de médula ósea de los pacientes pediátricos con sospecha de LA diagnosticados por morfología e inmunofenotipificación.

Núm.	Género	Edad (años)	Análisis morfológico		Análisis inmunofenotípico		Concordancia
			% Blastos	Clasificación FAB	% Blastos	Clasificación EGIL	
28	F	2	96.0	LLA-L2	80.7	Pre-B común	Concordante
29	F	5	86.0	LLA-L2	82.3	Pre-B común	Concordante
30	F	14	93.4	LLA-L2	78.5	Pre-B común	Concordante
31	M	7	66.6	LLA-L2	52.0	Pre-B común	Concordante
32	M	5	95.1	LLA-L1	92.0	Pre-B común	Concordante
33	M	3	78.5	LLA-L1	79.4	Pre-B común	Concordante
34	M	6	96.8	LLA-L2	90.0	Pre-B común	Concordante
35**	M	7	84.6	LLA-L1	88.4	Pre-B común	Concordante
36	M	14	-	S/Dx	48.5	Pre-B común	Discordante (A)
37*	M	9	-	S/Dx	73.1	Pre-B común	Discordante (A)
38**	M	10	4.5	No LA	10.0	Pre-B común	Discordante. mediante el análisis morfológico se encontró un porcentaje menor de blastos que los obtenidos mediante CFM
39*	M	7	73.1	LLA-L2	73.0	Pre-B	Concordante
40	M	2	-	S/Dx	64.4	Pre-B	Discordante (A)
41	M	15	92.3	LLA-L2	72.0	Pre-B	Concordante
42	F	1	81.3	LLA-L2	74.0	LLA-T	Concordante
43	M	13	88.4	LLA-L1	85.1	LLA-T	Concordante
44	M	3	-	S/Dx	52.0	LLA-T	Discordante (A)
45	M	11	48.9	LMA-M2	50.5	Mieloide	Concordante
46	M	—	85.2	LMA-M3	72.0	Mieloide	Concordante
47**	M	13	94.8	LMA-M1	83.4	Mieloide	Concordante
48**			39.4	LMA-M2	37.8	Mieloide	Concordante
49			48.6	LLA-L2	48.9	B/Mieloide	Discordante. Mediante el análisis morfológico se determinó una LLA-L2 y por CFM una LAB
50**			53.4	LMA-M2	47.0	T/Mieloide	Discordante. Por morfología se determinó una LMA-M2 y mediante CFM se determinó una LAB
51			-	S/Dx	92.5	LALA B/T	Discordante (A)
52			-	S/Dx	73.0	LALA B/T	Discordante (A)
53**			12.0	LA	0.4	MO normal	Discordante. Número de blastos identificados
54**			10.4	LA	2.0	MO normal	Discordante. Número de blastos identificados
55			0.4	No LA	2.0	MO normal	Concordante
56			0.8	No LA	0.8	MO normal	Concordante
57**			2.3	No LA	0.7	MO normal	Concordante
58*			2.4	No LA	2.0	MO normal	Concordante
59**			1.0	No LA	2.0	MO normal	Concordante

MO = médula ósea; S/Dx = sin diagnóstico debido a que la muestra era de mala calidad desde el punto de vista morfológico; LA = leucemia aguda; LALA = leucemia aguda de linaje ambiguo; CFM = citometría de flujo multiparamétrica; no LA = por morfología no se identificó una leucemia aguda; * = pacientes de recién diagnóstico; ** = pacientes con sospecha recaída; discordante (A): el diagnóstico morfológico no se logró realizar sin embargo, por CFM si se realizó el diagnóstico.

En cuanto al conteo plaquetario, se encontró una media de 84.2×10^3 plaquetas/ μL ($12-341 \times 10^3/\mu\text{L}$) y 90.4% presentó trombocitopenia (Tablas 9 y 10).

DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Las leucemias agudas (LA) comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades malignas caracterizadas por la expansión clonal de células precursoras hematopoyéticas^{15,16} en la MO y sangre periférica. Este tipo de leucemias son el tipo de cáncer más común en los niños, pues representan 25-35% de los casos de cáncer infantil en la mayoría de las poblaciones en vías de desarrollo.¹⁷

Se reconocen dos categorías principales: LLA y LMA, pero un pequeño número de casos no corresponden con estos dos grupos, porque no muestran evidencia clara de diferenciación de un solo linaje o expresan antígenos de diferenciación altamente específicos de más de un linaje¹⁵ y se denominan leucemias agudas de linaje ambiguo (LALA).

El diagnóstico de las LA se realiza con base en las manifestaciones clínicas y el estudio de las células leucémicas de SP y MO.¹⁸ Estos estudios incluyen: evaluación morfológica, inmunofenotipo y genética molecular y citogenética.

Tabla 7: Resultados positivos y negativos para LA obtenidos mediante morfología e inmunofenotipificación.

	Inmunofenotipo positivo	Inmunofenotipo negativo
Morfología positiva	42	2
Morfología negativa	10	5

Tabla 8: Parámetros determinados para el análisis morfológico.

Parámetro	%
Sensibilidad	80
Especificidad	71
Valor predictivo positivo	95
Valor predictivo negativo	33

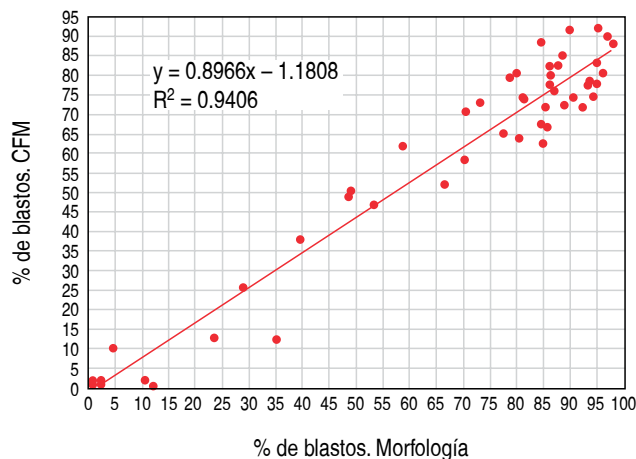


Figura 1: Correlación entre el porcentaje de blastos obtenidos por morfología y por citometría de flujo multiparamétrica.

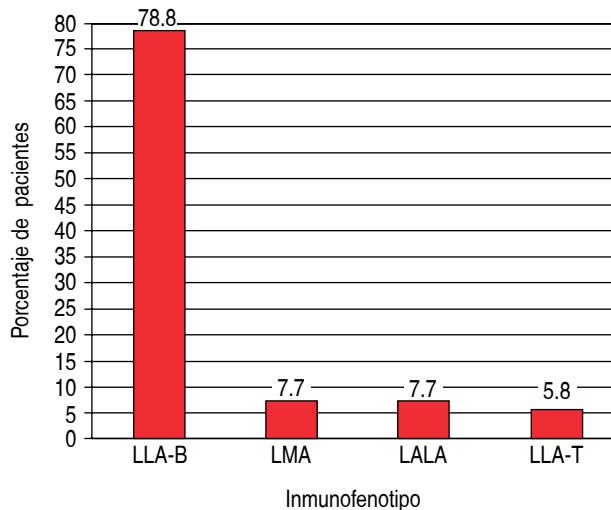


Figura 2: Distribución de subtipos de LA determinados por inmunofenotipo.

La evaluación morfológica de la MO, como primer paso en el algoritmo de diagnóstico de las LA,⁵ permite distinguir una LLA de una LMA.⁴ Junto con la morfología, la inmunofenotipificación mediante CFM es crucial para la detección y asignación del linaje, así como el estadio de maduración de las células blásticas en muestras sospechosas de leucemia, pues es la que permite realizar el diagnóstico y la clasificación definitiva de las LA.⁵

Es este trabajo, inicialmente, se evaluó la calidad de la muestra. Siete casos (11.8%) no pudieron analizarse por morfología, ya que las muestra eran de mala calidad, estaban coaguladas y presentaban una gran cantidad de células destruidas; otras muestras contenían mallas de fibrina o

coágulo. La presencia de coágulos pudo deberse a que no se colocó inmediatamente el aspirado en el tubo con EDTAK2 o que no se mezcló con el anticoagulante después de haberla colocado en él, ya que la MO se coagula más rápidamente que la SP⁶ o incluso que la muestra se haya coagulado debido a una mala punción medular o una extracción difícil.¹⁸ La gran cantidad de células destruidas, las hendiduras en los linfocitos y las células en apoptosis que se observaron en estas muestras pudieron provocarse por almacenamiento prolongado si se considera que no fueron remitidas al laboratorio de manera inmediata, posteriormente de la toma de muestra. La calidad de estas muestras concordó con lo obtenido por CFM, ya que mostraron un bajo porcentaje de viabilidad.

Ocho de las 58 muestras de MO contenían grumos medulares y 21 presentaban megacariocitos, lo cual indica que el resto de las muestras se encontraban hemodiluidas, de acuerdo con D'Onofrio y col.¹⁷ la dilución con SP puede llegar a ser de 40 al 100% en las muestras de MO de 0.25-0.5 mL.¹⁷

En este estudio, se encontró una correlación de 79.6% entre el análisis morfológico y el inmunofenotípico; así este resultado es muy cercano al obtenido y publicado por el Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles en 2002, quien reportó una correlación de 73% entre ambos métodos de un total de 648 casos de LA. Adicionalmente, en nuestro país, los doctores Guillermo y Alejandro Ruiz-Argüelles han generado información de importancia en el diagnóstico y clasificación inmunológica de las leucemias agudas. Dicha información está sustentada en la optimización de recursos y sobre todo en la correcta combinación de anticuerpos monoclonales a utilizar.¹⁹⁻²³ Marsán y

colaboradores²⁴ reportaron en 2016 una correlación de 81.3%, sin embargo, en este estudio solamente se analizaron casos de LLA.²⁴ El índice kappa (κ) de 0.352 obtenido en este estudio indica que la concordancia es aceptable dado que se encuentra dentro del intervalo de 0.21-0.40.²⁵

Los resultados discordantes se encontraron en los siguientes casos:

- Un caso en el que la morfología fue LLA-L2 y por CFM fue una LALA (células B/mieloide).
- Un caso que por CFM fue una LALA con marcadores de células T/mieloide y morfológicamente se clasificó como una LMA-M2, debido a que los blastos presentaban una morfología mielóide con presencia de gránulos azurófilos en el citoplasma; sin embargo, estos gránulos presentaban un tamaño más grande que los observados en los otros casos de LMA-M2, además se encontraron pseudo-Pelger-Huët y neutrófilos hipogranulares y los precursores eritroides presentaron características megaloblastoides. Estos hallazgos permitieron clasificar este caso como LMA-M2; los gránulos observados en los blastos se correlacionan con el resultado del inmunofenotipo ya que presentó positividad a la MPOx. Un caso similar como éste fue reportado por Sharma y su equipo,²⁶ en el que uno de los pacientes con bifenotipia T/mieloide reveló la presencia de bastones de Auer en los blastos.²⁶ Como se ha encontrado en este estudio, las LALA se pueden presentar morfológicamente como LLA o LMA, similar al estudio realizado por Matutes y col., en el cual, de 90 casos de LALA, 39 mostraron una morfología de LLA, 38 se clasificaron como LMA de subtipos M1 y M5 y, rara vez, M2 o M4 y ningún caso fue M3, M6 o M7.²⁷ Asimismo, Sharma y su grupo²⁴ reportaron que de 15 casos con LAB, 11 presentaron una morfología LMA-M1, M2 o M4/5 y ninguno presentó una LMA-M3, M6 o M7.²⁶ De acuerdo con los hallazgos anteriores, al estudiar un caso con LALA mediante un análisis morfológico inicial, no se podría sospechar de este tipo de leucemia, y por lo tanto, el diagnóstico de LALA se basa en la inmunofenotipificación y la exclusión por citogenética de los casos de LMA con anomalías genéticas recurrentes.²⁷
- Dos casos con presunta recaída fueron diagnosticados como positivos mediante morfología. En cada caso se encontró un porcentaje de blastos de 12 y 10.4%, sin embargo, la morfología no permitió determinar el linaje, mientras que por CFM encontraron 0.4 y 2% de células inmaduras y con un patrón de la expresión

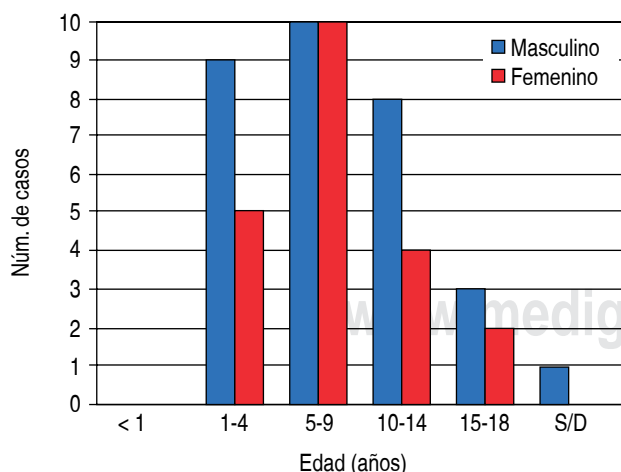


Figura 3: Intervalo de edades y número de pacientes masculinos y femeninos con LA.

de sus antígenos de manera normal. De esta manera se descartó la posible recaída.

- D) Un caso que por morfología se clasificó como normal, por CFM se diagnosticó LLA pre-B común y el porcentaje de blastos fue mayor al encontrado por morfología. En estas dos situaciones se destaca la importancia de la CFM para hacer el diagnóstico definitivo, además, se puede notar una de las limitantes que tiene la morfología en la determinación del número de blastos cuando éstos se encuentran en cantidades bajas y la sensibilidad analítica que presenta la CFM es mucho mayor (una célula neoplásica en 1,000,000 células analizadas) a la que tiene la morfología (una célula neoplásica en 1,000 células observadas), además de ser 100% operador dependiente. Así, la habilidad en la identificación de células y sus características morfológicas, morfométricas y tintoriales es la que condiciona los resultados.
- E) Siete casos (11.8%) no pudieron diagnosticarse por morfología debido a que mostraban una celularidad dañada o presencia de células destruidas, no así por citometría de flujo.

Los resultados con concordancia se encuentran de la siguiente forma:

- A) De los 44 casos por CFM se diagnosticó una LLA, y en 38 de éstos por morfología también se diagnosticó una LLA. B). Todos los casos (cuatro casos) en los que la CFM mostró un fenotipo mieloide por morfología

Tabla 9: Resultados de los parámetros hematológicos de 52 pacientes con LA.

Parámetro	n (%)
Leucocitos (x10 ³ /μL)	
Media (intervalo)	88.7 (2-433.4)
< 50	28 (53.8)
> 50	24 (46.2)
Hemoglobina (g/dL)	
Media (intervalo)	8.9 (3.2-14.2)
< 11	43 (82.7)
11-18	9 (17.3)
Plaquetas (x10 ³ /μL)	
Media (intervalo)	84.2 (12-341)
< 150	47 (90.4)
150-450	5 (9.6)

Tabla 10: Resultados de los parámetros hematológicos de 52 pacientes de acuerdo con el tipo de LA.

Parámetro	LLA-B n (%)	LLA-T n (%)	LALA n (%)	LMA n (%)
Leucocitos (x10 ³ /μL)				
< 50	23 (56)	0	3 (75)	
> 50	18 (44)	3 (100)	1 (25)	
< 20				
> 20				
Hemoglobina (g/dL)				
< 11	35 (85.4)	1 (33.3)	4 (100)	4 (100)
11-18	6 (14.6)	2 (66.6)		2 (50)
Plaquetas (x10 ³ /μL)				
< 150	36 (87.8)	3 (100)	4 (100)	2 (50)
150-450	5 (12.2)			4 (100)

fueron LMA, y C) y de los siete casos que por CFM mostraron un fenotipo normal, cinco de éstos por morfología también fueron normales.

Los valores de sensibilidad y especificidad indican que 80% de pacientes presenta algún tipo de LA cuando el diagnóstico morfológico resulta positivo y 71% de pacientes no presenta LA cuando morfológicamente no se identifican criterios morfológicos que establezcan el diagnóstico de LA. De acuerdo con los valores predictivos, hay 95% de probabilidad de que los individuos con sospecha de LA padezcan la enfermedad cuando la morfología es positiva y, existe 33% de probabilidad de que, si por morfología no se detecta algún tipo de leucemia, los pacientes realmente no la padezcan.

Los resultados obtenidos indican que el análisis morfológico se oriente hacia una LLA o LMA, sin embargo, no es suficiente para realizar el diagnóstico definitivo en las LA, sobre todo cuando la muestra no es de calidad adecuada o cuando se trata de una LALA. El resultado de la morfología debe confirmarse siempre con el estudio inmunofenotípico y siempre se debe realizar este último, ya que es el que finalmente determina el linaje específico afectado, así como la etapa de maduración o diferenciación en la que las células leucémicas están detenidas y por consiguiente permite, en algunos casos, estratificar el nivel de riesgo, pronóstico y tratamiento del paciente.

Se calculó el coeficiente de correlación entre el porcentaje de blastos obtenidos mediante morfología y por CFM y se encontró una R² de 0.9406. Este resultado indica que hubo una buena correlación entre ambos métodos,

ya que en la mayoría de los casos el porcentaje de blastos fue muy similar. Sin embargo, se presentaron dos casos en los que por morfología se detectó un porcentaje muy elevado de blastos (comparándolo con el obtenido por CFM), de manera que se consideraron como LA, mientras que por CFM esta enfermedad fue descartada por el bajo porcentaje de células inmaduras encontradas y que además mostraron una diferenciación normal, aunque en algunos casos ocurrió lo contrario. Esta incongruencia fue más notoria en los casos en los que por CFM se detectaron bajos porcentajes de células inmaduras, es decir, de 0.4 a 12.7%. Estos resultados pueden atribuirse a diversos factores, como la diferencia en la cantidad de células que se cuentan en ambos métodos, ya que por morfología se contaron aproximadamente 1,000 células mientras que por CFM se adquieren más de 100,000 eventos. Otro factor a considerar es que, cuando se realiza el extendido del aspirado medular, muchos blastos son destruidos por la manipulación al momento de la toma de muestras,^{14,28,29} y si el porcentaje de blastos es pequeño, la disminución es más evidente. En los dos casos donde se encontró mayor porcentaje de blastos por morfología (diagnosticados como LA por morfología y por CFM descartados) se pudieron haber confundido algunas células normales por células leucémicas, debido a que morfológicamente presentaban una apariencia de blastos, sin embargo, estos pacientes ingresaron por diagnóstico de recaída (estuvieron bajo tratamiento quimioterapéutico), lo cual explicaría la dificultad de distinguir claramente una célula madura de una inmadura, ya que éstas presentaban cambios en su morfología.

Kerrigan y su grupo³⁰ realizaron un estudio sobre los cambios morfológicos de las células sanguíneas después de la quimioterapia y encontraron, entre otros cambios, que células monocíticas presentaban núcleos inmaduros.³⁰ Esta situación pudo presentarse en estos dos casos debido a que agentes quimioterapéuticos pueden dar origen a cambios displásicos en las células.⁶ Es por ello que en los casos de recaída, el inmunofenotipo debe volver a realizarse y considerarse todos los marcadores celulares.

En cuanto al subtipo de LLA de la clasificación FAB, se encontró un mayor porcentaje de LLA-L2 (63.2%), mientras que del subtipo L1 fue de 36.8% y no se encontró ningún tipo con morfología L3. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Morales y cols.³¹ donde encontraron 62% en L2 y 38% en L1, sin presencia de L3.³¹ Cabe mencionar que la clasificación FAB no es la única forma en la cual debe clasificarse una LA ya que no ayuda a planificar el tratamiento.³²

Los subtipos de LMA más comunes en los niños son: M1, M2, M3 y M4, sin embargo, en los niños con sín-

drome de Down el subtipo M7 se ven con frecuencia.³³ Los cuatro casos de LMA encontrados en este estudio presentaron una morfología de M1, M2 y M3. Estos resultados concuerdan con los reportados por la literatura.

La LMA-M3 ahora es altamente curable cuando se administra ácido transretinoico (ATRA) y quimioterapia (antraciclina),³⁴ sin embargo, un conteo $\geq 10 \times 10^3$ células/ μL denota un riesgo alto, ya que tienen un mayor riesgo de muerte temprana y recaída.³ El conteo leucocitario del caso con LMA-M3 en este estudio fue de $40 \times 10^3/\mu\text{L}$, además de un conteo plaquetario de $19 \times 10^3/\mu\text{L}$, lo que sugiere que se trataba de un paciente de alto riesgo.

La importancia de la morfología en la LMA-M3 destaca aún más, ya que la morfología de los promielocitos y las características clínicas del paciente indicarán un diagnóstico presuntivo de esta entidad y en ésta, a diferencia de casi todas las otras LA, el tratamiento de este tipo de leucemias debe realizarse de manera inmediata por considerarse una urgencia hematológica. El tratamiento final se establece cuando se confirme la presencia de la translocación t(15:17) mediante métodos citogenéticos o moleculares.³⁵

La LLA de linaje B es el cáncer más frecuente en la infancia;³⁶ esta información se puede constatar con los resultados obtenidos en este estudio, ya que se encontró 78.8% de LLA-B, 5.8% de LLA-T y 7.7% de LMA. En el estudio realizado por Bekker y colaboradores³⁷ encontraron 85.1% de pacientes con LLA-B, 10.8% con LLA-T, y 4.1% pacientes con LALA. Pérez y col. reportaron 85.1% de casos con LLA y 12.3% con LMA.³⁸

En cuanto a la subclasificación de la LLA-B, se encontró un mayor porcentaje en la LLA pre-B común (85.4%), mientras que del subtipo LLA-B madura no se encontró ningún caso. Las frecuencias de distribución reportadas por varios grupos de trabajo internacionales son: pro-B 3%, pre-B común 60-65%, pre-B 9%, B maduras 3% y células T 10%.³⁹ Los resultados concuerdan también con el obtenido por Morales y col. (85% de LLA pre-B común).³¹

En este estudio se encontró 7.6% de LAB, sin embargo en la literatura frecuentemente se informa que la prevalencia es menos de 5% de las leucemias infantiles.⁴⁰ Los resultados en este tipo de LA llegan a ser muy variados, pues en este mismo hospital pero en otro estudio se reportó 28.3% de LALA.⁴¹ En cuanto a la proporción de subtipos de LALA, el resultado concordó con el reportado por Dorantes y cols.⁴¹ ya que en ambos se encontró un mayor porcentaje de B/T linfóide. La LALA es un grupo biológicamente diferente de LA y es importante identificarla porque es de mal pronóstico, recaída temprana e infiltración extramedular²⁶ y, por tanto, requiere de un tratamiento más intensivo.⁴⁰

Estudios epidemiológicos informan que existe una mayor prevalencia de LA en pacientes masculinos, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, ya que se encontró 59.6% de pacientes masculinos y 40.4% de pacientes femeninos. Resultados cercanos se obtuvieron en un estudio realizado en nuestro país por Rivera y cols.,² en un periodo de 2007 a 2012, en el cual los varones representaron 54.4% de los pacientes con LA.² Otro estudio realizado en 2016 por Mayer y col. en este hospital, de 549 pacientes con LA, 55% fue de pacientes masculinos.⁴²

Con respecto a la edad, se encontraron pacientes desde uno hasta 17 años, con una edad promedio de 7.7. El intervalo en el que se encontraron más casos fue de cinco a nueve años (38.5%) seguido de pacientes de uno a cuatro años (26.9%). En el estudio realizado por Rivera y cols.² encontraron una mayor prevalencia en los niños con cero a cuatro años (35%) y 29% en pacientes de cinco a nueve años. El estudio realizado por Morales y colegas³¹ en un periodo de 2008 a 2010, en 54 pacientes con LLA, el mayor número de pacientes se ubicó entre uno y 10 años y la media fue de 8.3 años (intervalo de uno a 17 años). Bekker y su equipo³⁷ reportaron que en 638 pacientes pediátricos con diagnóstico reciente de LLA de la Ciudad de México, la edad media de toda la población fue de 6.2 años.³⁷ Como se puede observar, la edad promedio obtenida es similar en estos estudios.

El valor normal del número de leucocitos durante la infancia es variable, por la influencia de la edad, sexo y raza, de acuerdo con Jaime y su grupo,^{43,44} quienes consideran de manera general que el valor de referencia para leucocitos se encuentra en el intervalo de $4.0-14.5 \times 10^3/\mu\text{L}$. En este estudio se encontraron nueve (17.3%) pacientes con conteos normales de leucocitos. Un conteo $> 50 \times 10^3/\mu\text{L}$ se considera de alto riesgo.⁴³ En este estudio se encontraron 23 (56%) con un conteo < 50 leucocitos $\times 10^3/\mu\text{L}$ y el resto (44%) presentó > 50 leucocitos $\times 10^3/\mu\text{L}$ (leucocitosis); estos pacientes presentan un alto riesgo de muerte temprana, ya que en la LLA con leucocitosis es más común que se desarrolle el síndrome de lisis tumoral (SLT).⁴⁴⁻⁴⁶

La LLA-T es una enfermedad agresiva, y estos pacientes a menudo tienen características clínicas de alto riesgo, como la edad⁴⁷ e hiperleucocitosis con infiltración extramedular.⁴⁸ Los resultados encontrados en este estudio concuerdan con lo descrito anteriormente ya que los tres casos de LLA-T presentaron leucocitosis ($> 50 \times 10^3/\mu\text{L}$), dos de ellos con hiperleucocitosis y un paciente que además de presentar hiperleucocitosis contaba con una edad de 13 años. Estas características desfavorables muestran que estos pacientes presentan un mayor riesgo de recaída o muerte temprana.⁴⁸

En las LMA, una cifra de leucocitos $< 20 \times 10^3/\mu\text{L}$ se asocia con un mejor pronóstico.³ En el estudio los cuatro pacientes con LMA presentaron un conteo leucocitario $> 20 \times 10^3/\mu\text{L}$, dos de ellos con hiperleucocitosis. Estos conteos altos sugieren una baja tasa de remisión completa en estos pacientes⁴⁹ y una muerte temprana. El diagnóstico temprano de la LMA es de gran importancia, ya que la hiperviscosidad celular causada por la elevación extrema de leucocitos puede conducir rápidamente a una falla orgánica múltiple y la muerte.⁵⁰

En cuanto a los otros parámetros hematológicos, en 43 (82.7%) pacientes se encontró una hemoglobina < 11 g/dL y 47 pacientes (90.4%) presentaron trombocitopenia ($< 150 \times 10^3/\mu\text{L}$). Estos hallazgos son causados por el fracaso de la hemopoyesis normal y el reemplazo de las células normales por las células leucémicas, lo que resulta en anemia, sangrado y mayor riesgo de infecciones.³³

CONCLUSIONES

Se encontró una correlación de 0.9406 y una concordancia de 79.6%, con un índice kappa de 0.325 entre el método morfológico y el inmunofenotípico en el diagnóstico de leucemias agudas. En la mayoría de los casos la morfología orientó hacia una LLA o una LMA.

Es necesario realizar el análisis morfológico antes de realizar el inmunofenotipo para clasificar el linaje específico y la etapa de diferenciación de las células leucémicas, pues ambos estudios son complementarios y no excluyentes.

Las LALA morfológicamente pueden mostrarse como LLA o LMA, razón por la cual la morfología es limitada en estos casos y la inmunofenotipificación ideal para la caracterización de las células leucémicas; éste es el método de elección en la identificación de este tipo de leucemias.

En los casos de recaída, se debe realizar siempre un nuevo inmunofenotipo considerando el mayor número de marcadores celulares en los diferentes linajes hematopoyéticos.

Para el análisis morfológico es importante que las muestras sean de buena calidad ya que, si la muestra está coagulada o con abundantes células destruidas, se limita su evaluación.

REFERENCIAS

1. Whitehead TP, Metayer C, Wiemels JL, Singer AW, Miller MD. Childhood leukemia and primary prevention. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2016; 46 (10): 317-352.
2. Rivera-Luna R, Shalkow-Klincovstein J, Velasco-Hidalgo L, Cárdenas-Cardós R, Zapata-Tarrés M, Olaya-Vargas A et al. Descriptive epidemiology in Mexican children with cancer under

- an open national public health insurance program. *BMC Cancer*. 2014; 14: 790.
3. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood Cancer J*. 2016; 6 (e441): 1-10.
 4. Govindan R, Morgensztern D. *Manual Washington de oncología*. 3a ed. España: Wolters Kluwer; 2016.
 5. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014; 6 (1): e2014073.
 6. Rodak BF, Fritsma GA, Keohane EM. *Hematología. Fundamentos y aplicaciones clínicas*. 4a ed. México: Médica Panamericana; 2014.
 7. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995; 9 (10): 1783-1786.
 8. Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2012; 120 (16): 3187-3205.
 9. Juárez-Velázquez R, Pérez-Vera P. Citometría de flujo en la evaluación de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda. *Acta Pediatr Mex*. 2012; 33 (4): 198-206.
 10. Peters JM, Ansari MQ. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia. *Arch Pathol Lab Med*. 2011; 135 (1): 44-54.
 11. D'Onofrio G, Zini G. *Morphology of blood disorders*. 2nd ed. Italia: Wiley Blackwell; 2015.
 12. Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hem*. 2008; 30 (5): 349-364.
 13. Bain BJ. Classification of acute leukemia: the need to incorporate cytogenetic and molecular genetic information. *J Clin Pathol*. 1998; 51 (6): 420-423.
 14. Bain BJ, Bates I, Blackmore S, Bradsha A, Catovsky D, De la Salle B et al. *Dacie and Lewis. Practical haematology*. 10th ed. España: Elsevier; 2008.
 15. van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, van der Velden VH, Flores J et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012; 26 (9): 1908-1975.
 16. Zhang L, Samad A, Pombo-de-Oliveira MS, Scelo G, Smith MT, Feusner J et al. Global characteristics of childhood acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 2015; 29 (2): 101-125.
 17. Lepe-Zúñiga JL, Jerónimo-López FJ, Hernández-Orantes JG. Características citopatológicas de la leucemia aguda en el Hospital de Especialidades Pediátricas de Chiapas, México. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2017; 74 (2): 122-133.
 18. Aznar J, Núñez A, Haro T, León A, Aldana J, González ER. *Manual de obtención y manejo de muestras para el laboratorio clínico*. Servicio Andaluz de Salud. España: Consejería de Salud. Junta de Andalucía; 2009.
 19. Ruiz-Argüelles A. La citología analítica moderna en el laboratorio de hematología. *Gac Méd Mex*. 2002; 138 (1): 155-159.
 20. Ruiz-Argüelles GJ. Advances in the diagnosis and treatment of acute and chronic leukemia in Mexico. *Sal Pub Méx*. 2016; 58 (2): 291-295.
 21. Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B. La necesidad de las recomendaciones de consenso para la inmunotipificación de las hemopatías malignas. *Rev Hematol Mex*. 2010; 11 (2): 82-90.
 22. Ruiz-Argüelles A, Duque RE, Orfao A. Report on the first latin american consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of leukemia. *Cytometry*. 1998; 34 (1): 39-42.
 23. Ruiz-Argüelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Duque RE, Orfao A. Report on the second latin american consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry Part B*. 2005; 70 (1): 39-44.
 24. Marsán SV, del Valle PLO, Díaz DG, Macías AC, Machín GS, Lam DRM et al. Correlación entre morfología y citometría de flujo en la leucemia linfocítica aguda infantil. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2016; 32 (4): 483-493.
 25. Cerda J, Villarreal L. Evaluación de la concordancia inter-observador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Rev Chil Pediatr*. 2008; 79 (1): 54-58.
 26. Sharma M, Sachdeva MUS, Bose P, Varma N, Varma S, Marwaha RK et al. Haematological profile of patients with mixed-phenotype acute leukaemia from a tertiary care center of north India. *Indian J Med Res*. 2017; 145 (2): 215-221.
 27. Matutes E, Pickl W, van't Veer M, Morilla R, Swansbury J, Strobl H et al. Mixed-phenotype acute leukemia: clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *Blood*. 2011; 117 (11): 3163-3171.
 28. Bain BJ. *Blood cells a practical guide*. 5th ed. London: Wiley Blackwell; 2015.
 29. Bain BJ, Clark DM, Wilkins B. *Bone marrow pathology*. 4th ed. EUA: Wiley-Blackwell; 2010.
 30. Kerrigan DP, Castillo A, Foucar K, Townsend K, Neidhart J. Peripheral blood morphologic changes after high-dose antineoplastic chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration. *Am J Clin Pathol*. 1989; 92 (3): 280-285.
 31. Morales-Peralta A, Covarrubias-Espinoza C, Rendón-García H, Larios-Farak TC. Supervivencia en niños con leucemia aguda linfoblástica tratados en base a factores de riesgo inmunomoleculares. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son*. 2014; 31 (2): 90-95.
 32. Layton-Tovar C. Factores de pronóstico en leucemia linfoblástica aguda pediátrica: posibles marcadores moleculares. *Medicina e Investigación*. 2015; 3 (1): 85-91.
 33. Asif N, Hassan K, Yasmeen N. Acute myeloblastic leukemia in children. *Int J Pathol*. 2011; 9 (2): 67-70.
 34. Swerdlow SH, Campo E, Lee N, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H et al. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008.
 35. Tallman MS, Altman JK. How I treat acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 2009; 114 (25): 5126-5135.
 36. Sanjuan-Pla A, Bueno C, Prieto C, Acha P, Stam RW, Marschalek R et al. Revisiting the biology of infant t (4; 11)/MLL-AF4+ B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015; 126 (25): 2676-2685.
 37. Bekker-Méndez VC, Miranda-Peralta E, Núñez-Enríquez JC, Olarte-Carrillo I, Guerra-Castillo FX, Pompa-Mera EN et al. Prevalence of gene rearrangements in Mexican children with acute lymphoblastic leukemia: a population study report from the Mexican interinstitutional group for the identification of the causes of childhood leukemia. *BioMed Res Inter*. 2014; 2014: 210560.
 38. Pérez-Saldivar ML, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Martínez-Avalos A, Medina-Sanson A, Espinosa-Hernández L et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC cancer*. 2011; 11: 355.
 39. Quero-Hernández A, Estrada CR, Pacheco PI, Reyes GU, Álvarez SRM, Vargas VM. Características clínicas e inmunofenotípicas en un grupo de niños con leucemia aguda linfoblástica. *Pediatría de México*. 2012; 14 (4): 166-171.

40. Bleahu ID, Vladasel R, Gheorghe A. A special case of acute leukemia in childhood. *J Med Life*. 2011; 4 (3): 297-301.
41. Dorantes-Acosta E, Medina-Sanson A, Dávila-Ornelas K, Briceida López-Martínez B. Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México «Federico Gómez», de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia). *Cac Mex Oncol*. 2013; 12 (3): 136-142.
42. Mayer VR. Clasificación Inmunológica de las Leucemias Linfoblásticas Agudas del Hospital Infantil de México «Federico Gómez», de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia) durante el periodo 2010-2015 [Tesis de Licenciatura]. México: HIMFG; 2016.
43. Jaime-Pérez JC, García-Arellano G, Herrera-Garza JL, Marfil-Rivera LJ, Gómez-Almaguer D. Revisiting the complete blood count and clinical findings at diagnosis of childhood acute lymphoblastic leukemia: 10-year experience at a single center. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2018; 41 (1): 57-61.
44. Lustosa de Sousa DW, de Almeida FFV, Cavalcante FFH, de Oliveira LMV. Acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: prognostic factors and analysis of survival. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2015; 37 (4): 223-229.
45. Röllig C, Ehninger G. How I treat hyperleukocytosis in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2015; 125 (21): 3246-3252.
46. Tasmeeen R, Islam A, Alam ST, Begum M. Tumor lysis syndrome and hyperleukocytosis in childhood acute lymphoblastic leukemia in a tertiary care hospital. *Mymensingh Med J*. 2017; 26 (4): 906-912.
47. You MJ, Medeiros LJ, Hsi ED. T-lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2015; 144 (3): 411-422.
48. Vadillo E, Dorantes-Acosta E, Pelayo R, Schnoor M. T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): new insights into the cellular origins and infiltration mechanisms common and unique among hematologic malignancies. *Blood*. 2017; 32 (1): 36-51.
49. De Jonge HJ, Valk PJ, de Bont ES, Schuringa JJ, Ossenkoppele G, Vellenga E et al. Prognostic impact of white blood cell count in intermediate risk acute myeloid leukemia: relevance of mutated NPM1 and FLT3-ITD. *Haematologica*. 2011; 96 (9): 1310-1317.
50. Stucki A, Rivier AS, Gikic M, Monai N, Schapira M, Spertini O. Endothelial cell activation by myeloblasts: molecular mechanisms of leukostasis and leukemic cell dissemination. *Blood*. 2001; 97 (7): 2121-2129.



Optimización del volumen sanguíneo en pruebas de laboratorio (citometría hemática, tiempos de coagulación y cuantificación de factores) en pacientes pediátricos

Optimization of blood volume in laboratory tests (blood cytometry, coagulation times and factor quantification) in pediatric patients

Parra-Ortega Israel,* López-Valladares Karina,* De la Rosa-Martínez Gabriel,*
Ramírez-Malagón Raúl,* Viveros-Rodríguez Romina Tamara,*
Vázquez-Gil Alberto,* López-Martínez Briceida†

Palabras clave:
Flebotomía, volumen sanguíneo, tubos de toma de muestra.

Keywords:
Phlebotomy, blood volume, sampling tubes.

* Departamento de Laboratorio Clínico.
† Subdirección de Servicios Auxiliares de Diagnóstico.

Hospital Infantil de México Federico Gómez. Ciudad de México.

Recibido:
26/11/2019
Aceptado:
09/12/2019

RESUMEN

Introducción: En los pacientes pediátricos con enfermedades graves o complejas existe gran dificultad para obtener volúmenes sanguíneos óptimos. Por las razones anteriores, los laboratorios clínicos se han visto en la necesidad de modificar sus procedimientos de toma y procesamiento de las muestras sanguíneas a fin de optimizar el rendimiento de los productos biológicos. **Material y métodos:** Se trata de un estudio prospectivo, descriptivo y comparativo de los resultados obtenidos en las determinaciones de citometrías hemáticas, TP, TTPa y cuantificación de fibrinógeno, factores V y VII de la coagulación. **Resultados:** Se realizó un análisis multivariante de la varianza o MANOVA para los individuos clínicamente sanos y pacientes, obteniendo los siguientes valores: ICS un valor de $F = 1.1416$ con $p = 0.0711$ y para los pacientes $F = 1.8519$ y $p = 0.0693$, y en la comparación de medias (prueba t de Student) se evidencia que no existe diferencia entre los resultados de las pruebas de TP, TTPa, cuantificación de fibrinógeno y factores V y VII de la coagulación tomadas en los diferentes tubos con citrato de sodio. **Conclusiones:** Es posible utilizar indistintamente los tubos de toma de muestra (citometría hemática, tiempos de coagulación y cuantificación de factores de la coagulación) de las marcas BD Vacutainer® versus Sarstedt®, ya que los resultados son muy similares y no muestran diferencias con una significancia estadística.

ABSTRACT

Introduction: In pediatric patients with serious or complex diseases, there is great difficulty in obtaining optimal blood volumes. For the above reasons, clinical laboratories have found it necessary to modify their procedures for taking and processing blood samples in order to optimize the performance of biological products. **Material and methods:** This is a prospective, descriptive and comparative study of the results obtained in the determinations of blood cytometry, TP, TTPa and quantification of fibrinogen, coagulation factors V and VII. **Results:** A multivariate analysis of variance or MANOVA was performed for ICS and patients, obtaining the following values: ICS a value of $F = 1.1416$ with $p = 0.0711$ and for patients $F = 1.8519$ and $p = 0.0693$ and in the comparison of means (Student t test), there is no difference between the results of the tests of TP, TTPa, quantification of fibrinogen and coagulation factors V and VII taken in the different tubes with sodium citrate. **Conclusions:** It is possible to use the sampling tubes interchangeably (blood cytometry, coagulation times and quantification of coagulation factors) of the BD Vacutainer® versus Sarstedt® brands since the results are very similar and do not show differences with statistical significance.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales limitantes dentro del laboratorio clínico para realizar pruebas en pacientes pediátricos es el volumen sanguíneo.

Se ha descrito que en pacientes críticos, los valores de hemoglobina disminuyen por las múltiples punciones en la toma de muestras sanguíneas, y en algunos casos llegan a ser tan graves dichas disminuciones que los pacientes requieren ser transfundidos.¹⁻⁶

Correspondencia:
Dra. Briceida López-Martínez
 Subdirección de Servicios Auxiliares de Diagnóstico, Hospital Infantil de México Federico Gómez.
 Dr. Márquez Núm. 162, Col. Doctores, 06720, Alcaldía Cuauhtémoc, Ciudad de México, México.
 Tel: 5552289917, Ext. 9022
 E-mail: brisalopezmtz@gmail.com

En diversas publicaciones⁷⁻¹⁰ se ha evidenciado que en la toma de muestras existen múltiples errores preanalíticos (hasta de 70%) que afectan de manera grave la calidad de los resultados emitidos por los laboratorios clínicos. Por ello se deben establecer medidas que favorezcan la obtención de resultados clínicamente confiables para la atención de pacientes.¹¹⁻¹⁴

En los pacientes pediátricos con enfermedades graves o complejas, existe gran dificultad para obtener volúmenes sanguíneos óptimos, por ello el rechazo de muestras que contienen un volumen de sangre menor o diferente al establecido. Por las razones anteriores los laboratorios clínicos se han visto en la necesidad de modificar sus procedimientos de toma y procesamiento de las muestras sanguíneas a fin de optimizar el rendimiento de los productos biológicos.¹⁵⁻¹⁷

Debido a esto, decidimos presentar los resultados obtenidos en la determinación de citometrías hemáticas (leucocitos, hemoglobina y plaquetas), tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa), cuantificación de fibrinógeno y factores V y VII de la coagulación, con diferentes tipos y marcas de tubos o viales de toma de muestra realizados en el Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio prospectivo, descriptivo y comparativo de los resultados obtenidos en las determinaciones de citometrías hemáticas, TP,

TTPa y cuantificación de fibrinógeno, factores V y VII de la coagulación utilizando diferentes tipos de tubos o viales de toma de muestra y de distintas marcas.

La comparación de resultados en la citometría hemática se realizó de la siguiente manera:

Se utilizaron los tubos de 1.3 y 0.5 mL con EDTA K3 de la marca Sarstedt® versus los tubos con EDTA K2 de 4 mL de BD Vacutainer®.

Para lo cual se incluyeron 24 individuos clínicamente sanos (ICS) y 22 pacientes pediátricos con enfermedades oncohematológicas (pacientes), a quienes solicitamos, previa autorización con un consentimiento informado por parte de los padres, tutores o cuidadores primarios, realizar la toma de muestras en los diferentes viales (Sarstedt® y BD Vacutainer®) para el proceso de una citometría hemática. Se consideraron los valores de leucocitos, hemoglobina y plaquetas para el estudio comparativo.

Las citometrías hemáticas fueron procesadas en un equipo LH780 Beckman Coulter.

La determinación de tiempos de coagulación del TP y TTPa, fibrinógeno, factores V y VII de la coagulación se efectuó de la siguiente manera:

Se incluyeron 16 pacientes con patologías que afectan los parámetros de las pruebas de coagulación y 30 ICS diferentes a los utilizados en las citometrías hemáticas, con previo consentimiento informado por parte de los padres, tutores o cuidadores primarios se les realizó la toma de muestras en los diferentes viales (tubos de 1.3 mL con citrato de sodio al 3.2% marca Sarstedt® versus tubos con citrato de sodio al 3.2% de 1.8 mL marca BD Vacutainer®) para efectuar la determinación de TP y TTPa, así como

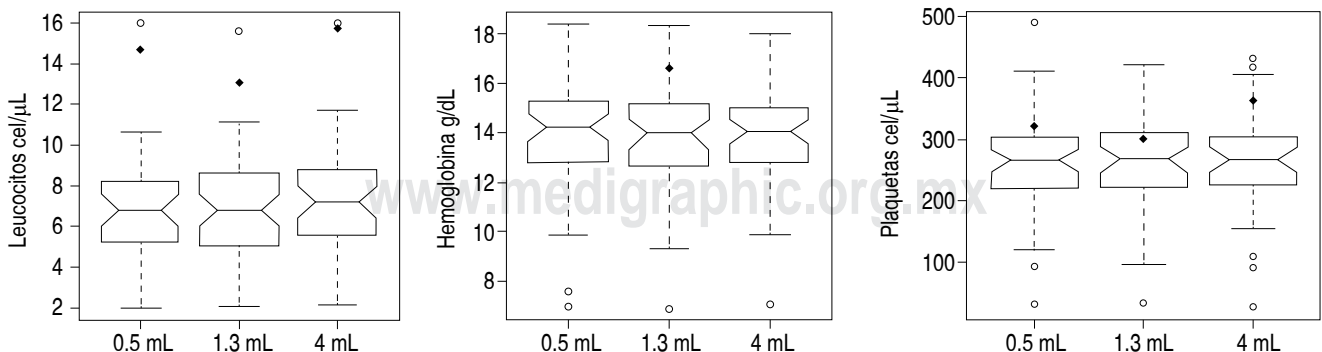


Figura 1: Se muestran tres *boxplot* con intervalo para la media de los valores de leucocitos, hemoglobina y plaquetas de los tres viales de toma de muestra (0.5 y 1.3 mL de Sarstedt® y 4 mL de BD Vacutainer®).

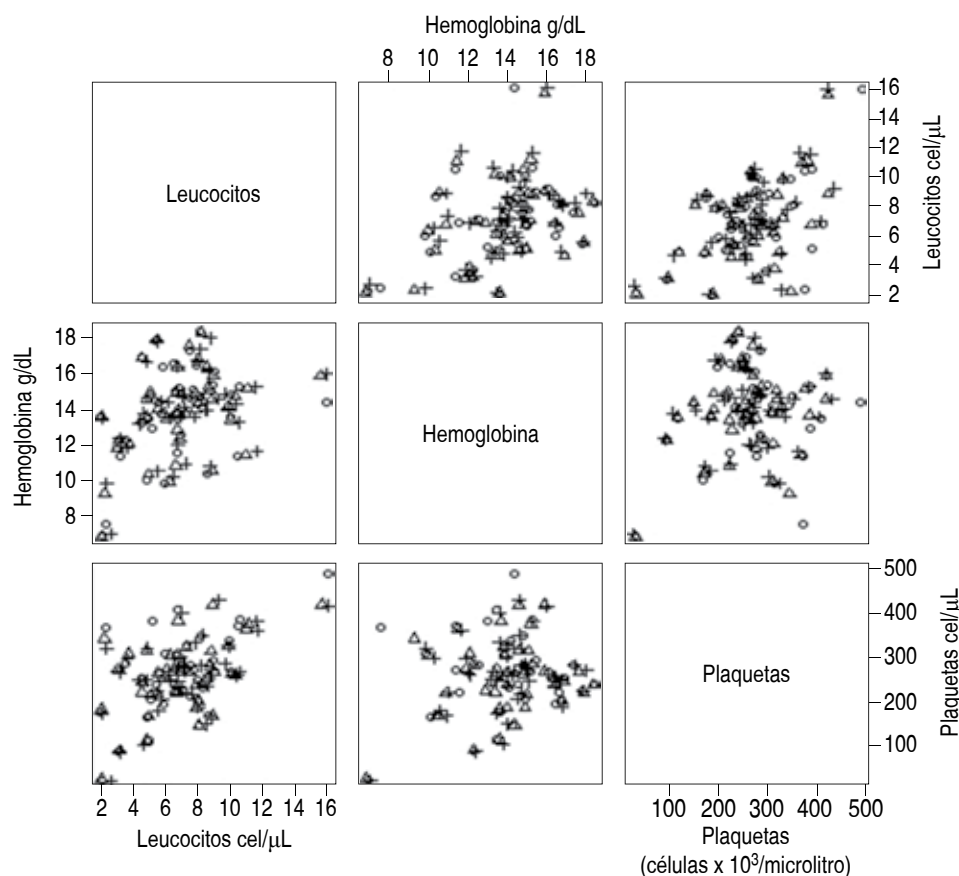


Figura 2:

Se muestra la dependencia de los parámetros y agrupaciones posibles.

para la cuantificación de fibrinógeno, factores V y VII de coagulación; se utilizó un equipo ACL TOP 500, IL Werfen.

Para el procesamiento estadístico de todas las variables y valores obtenidos se empleó el programa GraphPad Prism® 6.01 para Mac OS X y R proyect® 3.6.1 para Windows.

RESULTADOS

En el caso de las citometrías hemáticas, las muestras extraídas en los diferentes viales (0.5 y 1.3 mL de Sarstedt® y 4 mL de BD Vacutainer®) fueron procesadas dentro de las primeras cuatro horas después de su obtención y posterior al mantenimiento preventivo del equipo y verificación de los controles de calidad de primera y tercera opinión, así como la validación de los resultados de acuerdo al procedimiento analítico establecido en el laboratorio de hematología del HIMFG.

Los valores obtenidos en el proceso de las muestras se describen en la *Figura 1*, en la que se obtiene una distribución similar en los resultados de los tres viales en los ICS y pacientes.

Se observa en gráfico de escaleras (*Figura 2*) que los parámetros medidos (leucocitos, hemoglobina y plaquetas) no tienen dependencia entre ellos; sin embargo, se puede observar que existen agrupaciones de los individuos con los tres viales (0.5 y 1.3 mL de Sarstedt® y 4 mL de BD Vacutainer®).

Se puede apreciar en la *Figura 1* que no hay diferencia en la variación de los resultados de las mediciones de leucocitos, hemoglobina y plaquetas, ya que muestran una dispersión muy similar entre los tres viales (0.5 y 1.3 mL de Sarstedt® y 4 mL de BD Vacutainer®) y sus medias son prácticamente las mismas.

Se realizó la prueba de normalidad para los resultados obtenidos con los tres diferentes viales usados en la citometría hemática, y se observó una distribución normal en todas las variables (leucocitos, hemoglobina y plaquetas) (*Figuras 3 a 5 y Tabla 1*).

Con los valores obtenidos de la medición de leucocitos, hemoglobina y plaquetas en los diferentes viales (0.5 y 1.3 mL de Sarstedt® y 4 mL de BD Vacutainer®) se realizó un análisis multivariante de la varianza o MANOVA (por sus siglas en inglés, *multivariate analysis of variance*) para los ICS y pacientes; se obtuvieron los siguientes valores:

ICS un valor de $F = 1.1416$ con $p = 0.0711$ y para los pacientes $F = 1.8519$ y $p = 0.0693$.

En el caso de la comparación de los resultados en la determinación de TP y TTPa, así como para la cuantifica-

ción de fibrinógeno, factores V y VII de coagulación los resultados son los siguientes:

En la comparación de los resultados de ICS y los pacientes para las pruebas de TP y TTPa, se obtuvieron resultados

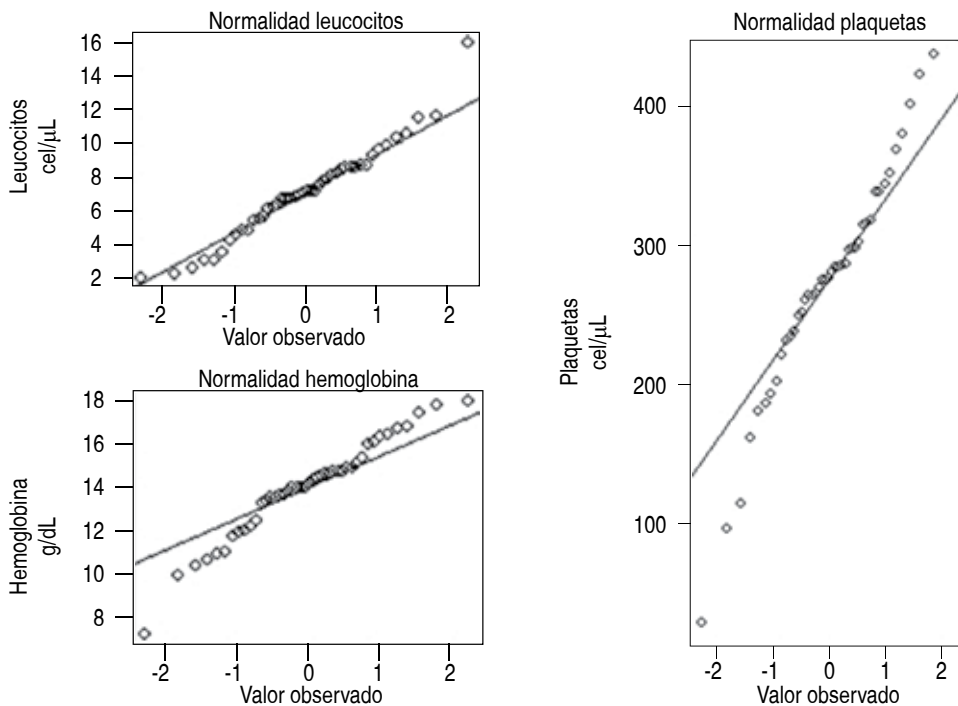


Figura 3:

Se muestran tres gráficos de normalidad (QQ plot) para los valores de leucocitos, hemoglobina y plaquetas, en el vial de 4 mL de BD Vacutainer®.

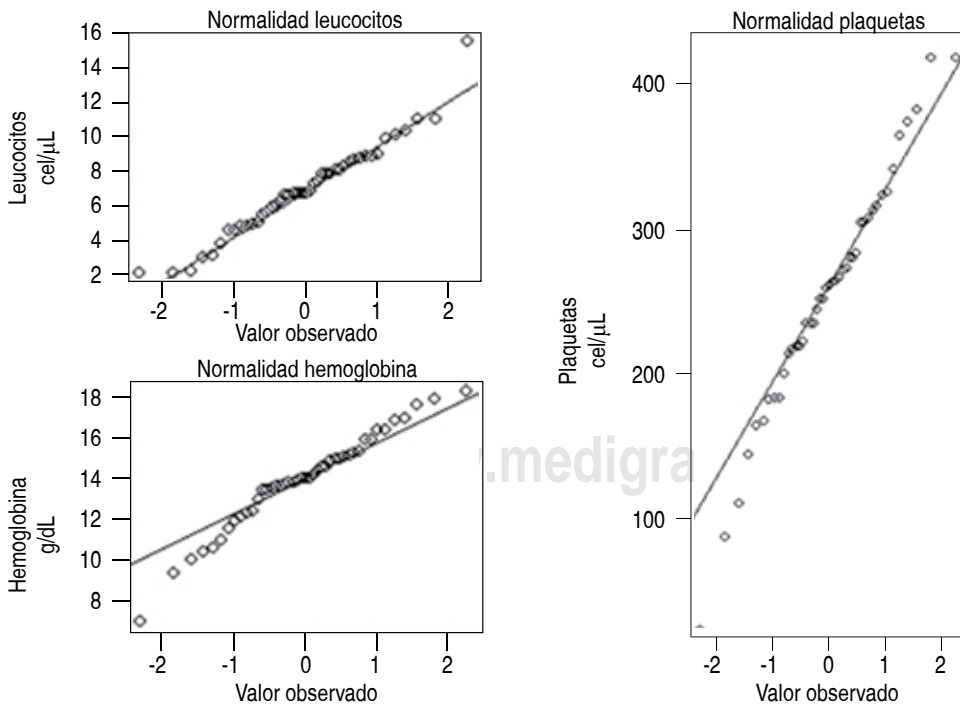


Figura 4:

Se muestran tres gráficos de normalidad (QQ plot) para los valores de leucocitos, hemoglobina y plaquetas, en el vial de 1.3 mL de Sarstedt®.

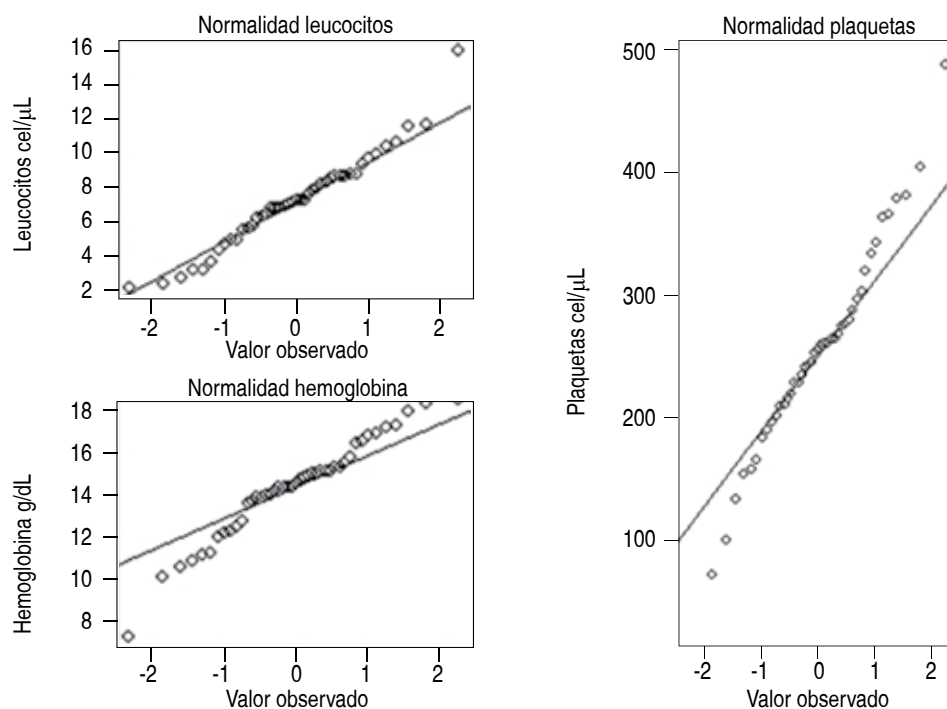


Figura 5:

Se muestran tres gráficos de normalidad (QQ plot) para los valores de leucocitos, hemoglobina y plaquetas, en el vial de 0.5 mL de Sarstedt®.

Tabla 1: Resumen de pruebas de normalidad realizadas.

Vial (mL)	Variable	Estadístico de prueba	p	Decisión
4	Leucocitos	0.96708	< 0.2377	No se rechaza
4	Hemoglobina	0.96392	< 0.1822	No se rechaza
4	Plaquetas	0.96679	< 0.2322	No se rechaza
1.3	Leucocitos	0.96638	< 0.2243	No se rechaza
1.3	Hemoglobina	0.96879	< 0.2741	No se rechaza
1.3	Plaquetas	0.98095	< 0.6715	No se rechaza
0.5	Leucocitos	0.96708	< 0.2377	No se rechaza
0.5	Hemoglobina	0.96392	< 0.1822	No se rechaza
0.5	Plaquetas	0.96679	< 0.2322	No se rechaza

aceptables con un valor de 0.9895 y 0.8083 en el coeficiente de correlación, con un IC al 95% de 0.9814 a 0.9941 y 0.6804 a 0.8884, respectivamente (Tabla 2 y Figura 6).

En el caso de las pruebas de fibrinógeno y factores V y VII de la coagulación se compararon los resultados y tuvieron los siguientes valores de correlación: fibrinógeno 0.84 con un IC al 95% de 0.73 a 0.90, para factor V de la coagulación fue de 0.87 con un IC de 0.78 a 0.92, y para el factor VII de la coagulación fue de 0.99 con IC al 95% 0.97 a 0.99 (Tabla 3, Figuras 7 a 9).

El resultado de la comparación de medias (prueba t de Student) evidencia que no existe diferencia entre los resultados de las pruebas de TP, TTPa, cuantificación de fibrinógeno y factores V y VII de la coagulación tomadas en los tubos con citrato de sodio de BD Vacutainer® de 1.8 mL versus Sarstedt® 1.3 mL (Tablas 2 y 3).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se ha descrito en diversas publicaciones que en la fase preanalítica es donde ocurren la mayor parte de errores en los laboratorios clínicos,^{1-3,10-15} es por ello que la selección de viales o materiales para la toma de muestra es primordial, en nuestra experiencia consideramos los siguientes puntos como fundamentales:

- 1) Tipo de población a la que se realizarán las pruebas (pacientes adultos, pediátricos, geriátricos).
- 2) Conocer el porcentaje de los pacientes que son de consulta externa y los de hospitalización.
- 3) Conocer el volumen requerido por prueba, perfil o determinación analítica.
- 4) Tener presente el volumen muerto de cada analizador, así como el volumen mínimo de muestra requerido en las repeticiones, por verificación de resultados durante el proceso analítico.

- 5) Compatibilidad de los viales de toma de muestra con los analizadores.
- 6) Conocer el costo de cada vial.
- 7) Conocer la disponibilidad en el mercado.
- 8) Conocer los riesgos en el manejo de biológicos infecciosos que genera cada vial.

Basados en los puntos anteriores, hemos seleccionado los viales de toma de muestra con el argumento de «obtener el mínimo necesario, pero que sea suficiente» al tener en cuenta que en los pacientes pediátricos son

más comunes anemias secundarias a múltiples tomas de muestra. Hay un informe con una serie de pacientes (adultos) de una unidad de cuidados intensivos, en la cual se redujo el volumen de sangre extraído hasta en 46.8% con el uso de viales de toma de muestra de menor volumen al habitual, se cubrió las necesidades y fue posible disponer de suficiente sangre o muestra para realizar todas las pruebas de laboratorio requeridas al momento de la flebotomía. Las flebotomías mediante tubos más pequeños ayudan a reducir el riesgo de la anemia inducida por flebotomía en adultos

Tabla 2: Valores obtenidos de la determinación de tiempos de protrombina y tiempo de trombolastina parcial activada en los ICS y pacientes.

	TP BD Vacutainer®	TP Sarstedt®	TTPa BD Vacutainer®	TTPa Sarstedt®
Número de valores	46.0000	46.0000	46.000	46.0000
Valor mínimo	10.2000	9.9000	20.800	19.7000
Percentil 25%	11.2500	10.7000	29.000	30.5300
Mediana	11.9000	11.4000	31.600	33.0500
Percentil 75%	13.0500	12.1500	36.300	37.2300
Valor máximo	35.2000	31.9000	182.500	49.1000
Media	12.8000	12.2200	35.960	33.7800
Desviación estándar	4.0480	3.7130	22.280	6.4640
Error estándar de la media	0.5783	0.5305	3.183	0.9331
Valor bajo IC 95%	11.6400	11.1600	29.560	31.9000
Valor alto IC 95%	13.9600	13.2900	42.360	35.6600
p (prueba t de Student)		> 0.05		> 0.05

Tabla 3: Valores obtenidos en las cuantificaciones de fibrinógeno, factores V y VII de la coagulación en los ICS y pacientes.

	Fibrinógeno BD Vacutainer®	Fibrinógeno Sarstedt®	Factor V BD Vacutainer®	FV Sarstedt®	FVII BD Vacutainer®	FVII Sarstedt®
Número de valores	46.00	46.00	46.000	46.000	46.000	46.000
Valor mínimo	125.00	111.00	67.300	64.500	52.400	49.100
Percentil 25%	270.00	261.80	91.700	89.600	80.080	74.900
Mediana	320.00	304.00	101.800	100.600	97.600	90.050
Percentil 75%	366.80	373.00	115.900	118.100	112.000	109.200
Valor máximo	699.00	682.00	144.600	152.100	185.100	191.300
Media	326.80	318.00	103.500	104.500	98.180	94.730
Desviación estándar	90.42	89.81	17.850	19.540	25.590	26.120
Error estándar de la media	13.05	12.96	2.576	2.821	3.693	3.769
Valor bajo IC 95%	300.50	291.90	98.310	98.820	90.750	87.140
Valor alto IC 95%	353.00	344.10	108.700	110.200	105.600	102.300
p (prueba t de Student)		> 0.05		> 0.05		> 0.05

Figura 6:

Se muestran los valores obtenidos en determinación de tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activado (incluyendo ICS y pacientes), utilizando los dos viales para la toma de muestra (tubos de 1.3 y 1.8 mL), así como el valor de la media y desviación estándar en la prueba de tiempo de protrombina (A) y tiempo de tromboplastina parcial activado (B).

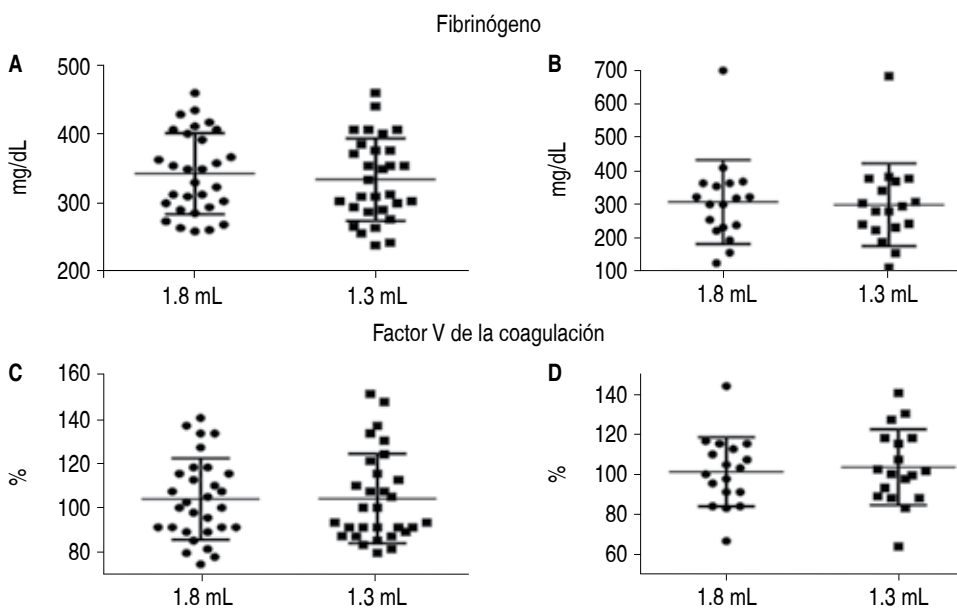
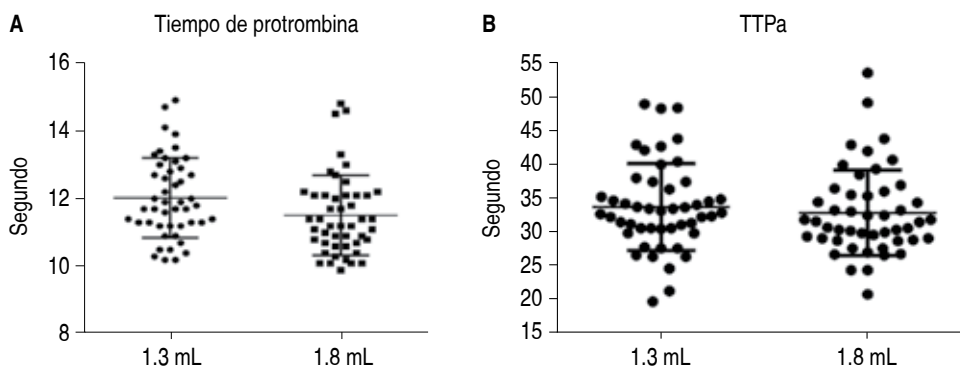
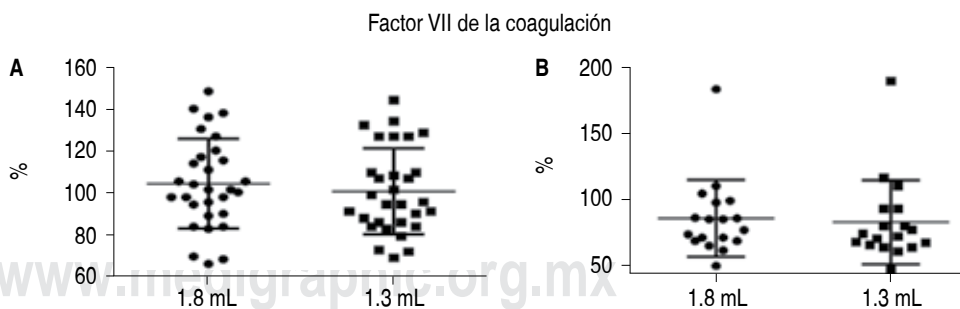


Figura 7:

Se muestran los valores obtenidos, las determinaciones de fibrinógeno y factor V de la coagulación (incluyendo ICS y pacientes), utilizando los dos viales para toma de muestra (tubos de 1.3 y 1.8 mL), así como el valor de la media y desviación estándar en cuantificación de fibrinógeno a ICS (A) y pacientes (B) al igual que el valor de factor V de la coagulación ICS (C) y pacientes (D).

Figura 8:

Se muestran los valores obtenidos de cada determinación de factor VII de la coagulación (incluyendo ICS y pacientes), utilizando los dos viales para toma de muestra (tubos de 1.3 y 1.8 mL) así como el valor de la media y desviación estándar en valor de factor V de la coagulación ICS (A) y pacientes (B).



sin comprometer los procedimientos de las pruebas de laboratorio.⁴

En nuestro país el Dr. Sánchez-Girón publicó el primer artículo donde se comparó el volumen de muestras tomadas con viales de menor volumen (pediátricos) y los

beneficios que se obtienen al reducir el tamaño del tubo de recolección de sangre en adultos, sin observar volúmenes de muestra insuficientes.³ El uso de tubos de 0.5 mL (pediátricos) reduce el volumen sanguíneo a utilizar en la realización de pruebas de laboratorio hasta en 87.5%

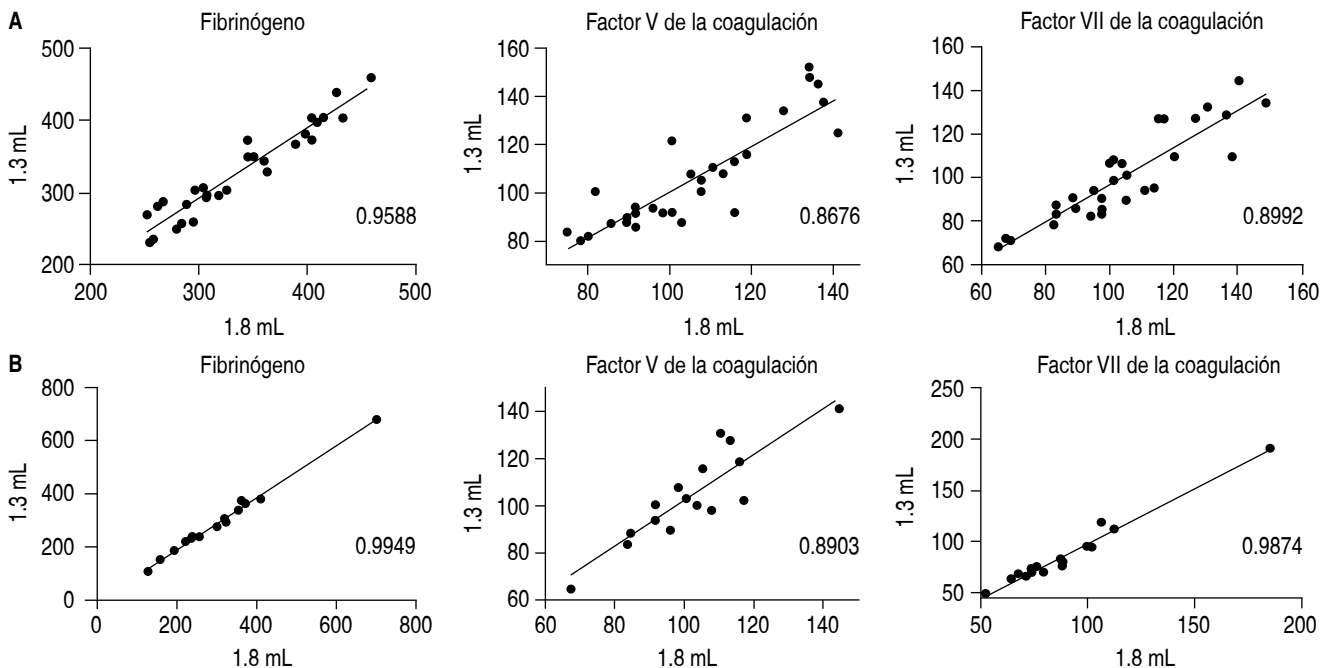


Figura 9: Se muestran la distribución de los valores obtenidos de cada determinación de fibrinógeno, factores V y VII de la coagulación, utilizando los dos viales para toma de muestra (tubos de 1.3 y 1.8 mL) en ICS (A) y pacientes (B).

(3.5 mL menos) (en el caso de las citometrías hemáticas). Al incorporar tubos de 1.3 y 0.5 mL para efectuar una citometría hemática logramos mejorar el uso del volumen sanguíneo a obtener en la flebotomía, llegando también a utilizar ese volumen de muestra en otros parámetros bioquímicos (electrolitos por ejemplo). Es importante considerar que el volumen de muestra que se ahorra es con base en las recomendaciones de los viales de toma de muestra, donde refieren que deben llenarse hasta el aforo; sin embargo, ya se ha reportado que los valores de la citometría hemática no se ven afectados si los tubos de 4.0 mL no se aforan hasta la marca.⁸

En el caso de los beneficios obtenidos en las pruebas de coagulación y cuantificación de factores se obtuvo una reducción teórica de 27.7% (500 microlitros) del volumen sanguíneo requerido para TP y TTPa, en la cuantificación de factores de la coagulación el beneficio es mayor, ya que los pacientes críticos que se encuentran en la unidad de cuidados intensivos requieren valoraciones periódicas de factor V y VII cuando son candidatos a trasplante hepático y reducir 500 microlitros por evento en la toma de muestra disminuye el riesgo de anemia inducida por flebotomía, ya que el abordaje clínico de estos pacientes requiere de muchas pruebas de laboratorio y por ende múltiples tomas de muestra durante su atención.

Si bien los volúmenes de muestra obtenidos son menores y vastos para realizar las pruebas de laboratorio (las evaluadas en este protocolo), es necesario seleccionar de manera minuciosa a los pacientes que son candidatos o factibles a incluir en los procesos de flebotomía con volúmenes reducidos, pues en pacientes con mayor número de pruebas es pertinente tomar un vial de mayor volumen o en su defecto más de uno.

Consideramos algunos factores que deben tenerse siempre presentes al querer implementar cambios en las tomas de muestra y son los siguientes:

- La experiencia y habilidad en la toma de muestra afecta directamente los resultados (los mejores resultados se dan con personal capacitado).
- En los pacientes que tienen un hematocrito menor de 22% y mayor de 55% se debe considerar con reserva el uso de volúmenes pequeños (en el caso de pruebas de coagulación), ya que el ajuste del anticoagulante puede no hacerse de manera eficiente.
- El conocimiento y la capacitación en el uso del material de toma de muestra y las plataformas analíticas son fundamentales para poder reducir el volumen sanguíneo en la toma de muestras.

En conclusión, es posible utilizar de manera indistinta los tubos de toma de muestra (citometría hemática, tiempos de coagulación y cuantificación de factores de la coagulación) de las marcas BD Vacutainer® versus Sarstedt®, ya que los resultados son muy similares y no muestran diferencias con una significancia estadística.

REFERENCIAS

- Lippi G, von Meyer A, Cadamuro J, Simundic AM. Blood sample quality. *Diagnosis (Berl)*. 2019; 6 (1): 25-31.
- Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D, Bowen RA, Church S, Delanghe J et al. Preanalytical quality improvement: in quality we trust. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51 (1): 229-241.
- Sanchez-Giron F, Alvarez-Mora F. Reduction of blood loss from laboratory testing in hospitalized adult patients using small-volume (pediatric) tubes. *Arch Pathol Lab Med*. 2008; 132 (12): 1916-1919.
- Smoller BR, Kruskall MS, Horowitz GL. Reducing adult phlebotomy blood loss with the use of pediatric-sized blood collection tubes. *Am J Clin Pathol*. 1989; 91 (6): 701-703.
- May TA, Clancy M, Critchfield J, Ebeling F, Enriquez A, Gallagher C et al. Reducing unnecessary inpatient laboratory testing in a teaching hospital. *Am J Clin Pathol*. 2006; 126 (2): 200-206.
- Smoller BR, Kruskall MS. Phlebotomy for diagnostic laboratory tests in adults. Pattern of use and effect on transfusion requirements. *N Engl J Med*. 1986; 314 (19): 1233-1235.
- Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev*. 2012; 33 (3): 85-88.
- Xu M, Robbe VA, Jack RM, Rutledge JC. Under-filled blood collection tubes containing K2EDTA as anticoagulant are acceptable for automated complete blood counts, white blood cell differential, and reticulocyte count. *Int J Lab Hematol*. 2010; 32 (5): 491-497.
- Hicks JM. Excessive blood drawing for laboratory tests. *N Engl J Med*. 1999; 340 (21): 1690.
- Wisser D, van Ackern K, Knoll E, Wisser H, Bertsch T. Blood loss from laboratory tests. *Clin Chem*. 2003; 49 (10): 1651-1655.
- Plebani M. The CCLM contribution to improvements in quality and patient safety. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51 (1): 39-46.
- Casalino LP, Dunham D, Chin MH, Bielang R, Kistner EO, Karrison TG et al. Frequency of failure to inform patients of clinically significant outpatient test results. *Arch Intern Med*. 2009; 169 (12): 1123-1129.
- Hammerling JA. A Review of medical errors in laboratory diagnostics and where we are today. *Lab Med*. 2012; 43: 41-44.
- Adcock DM, Kressin DC, Marlar RA. Minimum specimen volume requirements for routine coagulation testing: dependence on citrate concentration. *Am J Clin Pathol*. 1998; 109 (5): 595-599.
- Lippi G, Cadamuro J, von Meyer A, Simundic AM; European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med*. 2018; 56 (5): 718-727.
- Giavarina D, Lippi G. Blood venous sample collection: recommendations overview and a checklist to improve quality. *Clin Biochem*. 2017; 50 (10-11): 568-573.
- Sciacovelli L, Panteghini M, Lippi G, Sumarac Z, Cadamuro J, Galoro CAO et al. Defining a roadmap for harmonizing quality indicators in Laboratory Medicine: a consensus statement on behalf of the IFCC Working Group "Laboratory Error and Patient Safety" and EFLM Task and Finish Group "Performance specifications for the extra-analytical phases". *Clin Chem Lab Med*. 2017; 55 (10): 1478-1488.

Farmacorresistencia de bacterias no fermentadoras de prioridad crítica aisladas en Chilpancingo, Guerrero^{||}

Drug resistance of non-fermentation critical priority bacteria isolated in Chilpancingo, Guerrero

Barlandas-Rendón Nicolás Rogelio Eric,^{*,‡,§} Quintana-Ponce Sandra,^{*,‡} Nájera-Bello Jorge Antonio,^{*,‡} Villanueva-Pastrana Nallely,^{*} Cruz-Navarrete Elizabeth,[§] Maya-Rodríguez Patricia Anayeli,[§] Torres-Guzmán Félix^{*}

Palabras clave:

No fermentadoras, resistencia, sensibilidad, antibióticos.

Keywords:

Non-fermenting, resistance, sensitivity, antibiotics.

* Escuela Superior de Ciencias Naturales; Universidad Autónoma de Guerrero. Guerrero, México.

‡ Laboratorio Clínico Bioclin, SA de CV. Chilpancingo, Guerrero, México.

§ Hospital General «Dr. Raymundo Abarca Alarcón». Guerrero, México.

^{||} Este artículo fue presentado en extenso en el XLIX Congreso Nacional Mexicano de Patología Clínica en Boca del Río, Veracruz 2019 y ahí fue seleccionado y premiado.

Correspondencia:

Barlandas-Rendón Nicolás Rogelio Eric
E-mail: barlandas@outlook.com

Recibido:
27/11/2019

Aceptado:
09/12/2019

RESUMEN

Introducción: La resistencia bacteriana a los antibióticos se considera un problema de salud a nivel mundial que se incrementa gradualmente. Las cepas no fermentadoras como *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos, y *Stenotrophomonas maltophilia* resistente a trimetoprim/sulfametoxazol se caracterizan por tener patrones de multiresistencia que limitan las opciones terapéuticas. **Objetivo:** Identificar el perfil de resistencia a los antimicrobianos de microorganismos no fermentadores de prioridad crítica aislados en Chilpancingo, Guerrero. **Material y métodos:** La presente investigación se realizó con cepas aisladas en el Hospital General «Dr. Raymundo Abarca Alarcón» (HGAA) y el Laboratorio BIOCLIN en Chilpancingo, Gro., México durante el año 2018. Para la identificación bacteriana se utilizó el equipo automatizado VITEK 2 Compact (HGAA) y el sistema MicroScan (BIOCLIN), considerando los lineamientos del documento M100 2019 del *Clinical & Laboratory Standards Institute*. Se realizó el cribado de resistencia a colistina a 16 cepas de *P. aeruginosa*. **Resultados:** De un total de 4,080 aislamientos en 2018, se recuperaron 166 (4.1%) aislamientos de las cepas no fermentadoras previamente descritas, de las cuales 128 (77.1%) fueron de *P. aeruginosa*, 18 (10.8%) de *S. maltophilia* y 20 (12.0%) de *A. baumannii*. Se identificó que *P. aeruginosa* mostró resistencia importante a levofloxacino (LVX) con 46.2% y 20.8% a meropenem (MEM); para *A. baumannii* se identificó 50.0% de resistencia frente a amikacina (AMK) con una resistencia similar a tazobactam (TZP), mientras que *S. maltophilia* mostró 25.0% de resistencia frente a sulfametoxazol/trimetoprim (STX), se observó resistencia intermedia a LVX. Una cepa de *P. aeruginosa* fue resistente a colistina. **Conclusión:** En Chilpancingo, Guerrero, se encuentran fenotipos de bacterias no fermentadoras considerados por la Organización Mundial de la Salud como de alerta epidemiológica y de prioridad crítica.

ABSTRACT

Introduction: Bacterial resistance to antibiotics is considered a global health problem that is gradually increased. Non-fermenting strains such as *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* resistant to carbapenems, and *Stenotrophomonas maltophilia* resistant to sulfamethoxazole/trimethoprim, are characterized by multi-resistance patterns that limit therapeutic options. **Objective:** Identify the antimicrobial resistance profile of critically-priority non-fermenting microorganisms isolated in Chilpancingo, Guerrero. **Material and methods:** This research was conducted with isolated strains at the «Dr. Raymundo Abarca Alarcón» General Hospital (HGAA) and the BIOCLIN Laboratory, in Chilpancingo, Gro., Mexico, during 2018. The VITEK 2 Compact (HGAA) automated equipment and the MicroScan system (BIOCLIN) were used for bacterial identification, taking into view the guidelines of document M100 2019 of the *Clinical & Laboratory Standards Institute*. Colistin resistance screening was performed on 16 strains of *P. aeruginosa*. **Results:** Out of a total of 4,080 isolations in 2018, 166 (4.1%) were isolations recovered as non-fermenting strains previously described; of which 128 (77.1%) *P. aeruginosa*, 18 (10.8%) *S. maltophilia* and 20 (12.0%) *A. baumannii*. Was found that *P. aeruginosa*, exhibited significant resistance for levofloxacin (LVX) with 46.2% and 20.8% for meropenem (MEM); for *A. baumannii* a 50.0% resistance against amikacin (AMK) was identified with a similar resistance for tazobactam (TZP). While *S. maltophilia* presented 25.0% resistance against sulfamethoxazole /trimethoprim (STX), and intermediate resistance for LVX. One strain of *P. aeruginosa* was resistant to colistin. **Conclusion:** in Chilpancingo, Guerrero, were found phenotypes of non-fermenting bacteria, considered by WHO to be epidemiological alert and critical priority.

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana a los antibióticos se considera un problema de salud a nivel mundial que se incrementa gradualmente. Se considera que la causa principal de su aumento es el uso y abuso indiscriminado de antibióticos, convirtiéndose en una grave amenaza que día a día involucra nuevas especies de microorganismos y nuevos mecanismos de resistencia,^{1,2} lo que impacta directamente en la posibilidad de obtener la curación clínica y la erradicación del agente causal, e incrementa los costos del tratamiento, la morbilidad y la mortalidad.¹

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó una lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos. Dentro de esta lista se encuentran patógenos considerados de prioridad crítica que incluyen: *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos, y *S. maltophilia* resistente a trimetoprim-sulfametoxazol (STX).³

El término bacilos no fermentadores (BNF) se refiere a un grupo de bacilos Gram negativos aerobios, que son incapaces de utilizar los hidratos de carbono como fuente de energía, y los degradan más por vía oxidativa que por vía fermentativa; incluyen géneros de interés clínico como son: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Eikenella*, *Achromobacter*, *Acidovorax*, *Kingella*, *Moraxella*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Chryseomonas*, *Comamonas*, *Flavimonas*, *Flavobacterium* y *Sphingomonas*.⁴

Como se ha descrito previamente, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* y *S. maltophilia* presentan con frecuencia un patrón de multiresistencias que en ocasiones limita las opciones terapéuticas a un único antibiótico, colistina, que tiene problemas de toxicidad renal y neurológica. Por otro lado, es importante discernir si se trata de una colonización o una infección, ya que los casos de colonización no deberían ser tratados por los efectos adversos de los antibióticos y la selección de microorganismos resistentes, asociándose a un aumento en las tasas de mortalidad. Por todo esto, el tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos es un importante reto terapéutico.^{5,6}

P. aeruginosa exhibe muchos mecanismos de resistencia, incluyendo enzimas que modifican los antimicrobianos como β -lactamasas y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, la adquisición de plásmidos que codifican para genes de resistencia, permeabilidad limitada a los antimicrobianos y a la posibilidad de generar bombas dependientes de energía que expulsan el antimicrobiano fuera de la bacteria.⁷⁻⁹

A. baumannii ha emergido como una bacteria de gran importancia clínica, se le relaciona con altos porcentajes

de mortalidad, se caracteriza por su capacidad para diseminarse en el ambiente hospitalario. Con el paso del tiempo ha adquirido diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos, en la actualidad se reporta resistencia a carbapenémicos, aminoglucósidos, quinolonas y polimixinas, lo que ha complicado el manejo de las infecciones ocasionadas por esta bacteria.^{10,11}

Aunque *S. maltophilia* es un microorganismo con limitada virulencia posee una resistencia intrínseca de alto grado que le confiere un carácter de multiresistencia, y en combinación con las resistencias adquiridas por presión selectiva de los antimicrobianos tiene una ventaja ecológica sobre otros posibles patógenos en el medio hospitalario.¹² Surge como un importante patógeno en infecciones nosocomiales con mortalidad que oscila entre 14-69% en pacientes con bacteriemia. En un estudio de infecciones en unidades de cuidados intensivos en los Estados Unidos, entre 1993 y 2004 se le reportó entre los 11 microorganismos más frecuentemente aislados, representando 4.3% de los 74,394 aislamientos de bacilos Gram negativos.¹²

Objetivo: conocer el perfil de resistencia a los antimicrobianos de microorganismos no fermentadores de prioridad crítica en cepas aisladas en Chilpancingo, Guerrero, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la presente investigación se analizaron las resistencias de cepas no fermentadoras de prioridad crítica, incluyendo *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *S. maltophilia*, y cepas aisladas durante el año 2018 procedentes del laboratorio de Microbiología del Hospital General «Dr. Raymundo Abarca Alarcón» (HGAA) y del laboratorio BIOCLIN de Chilpancingo, Gro., México. Para la identificación bacteriana se utilizó el equipo automatizado VITEK 2 Compact (HGAA) y el sistema MicroScan (BIOCLIN).

Se realizó el cribado de resistencia a la colistina como estudio complementario a 16 cepas de *P. aeruginosa* elegidas de manera aleatoria.

RESULTADOS

De un total de 4,080 aislamientos obtenidos durante 2018 se recuperaron 166 (4.1%) aislamientos de cepas no fermentadoras consideradas por la OMS de prioridad crítica, de las cuales 128 (77.1%) fueron cepas de *P. aeruginosa*, 18 (10.8%) de *S. maltophilia* y 20 (12.0%) cepas de *A. baumannii*.

El espécimen en el que se recuperó mayor número de *P. aeruginosa* fue del cultivo de expectoración con

29 aislamientos, seguido de urocultivos con 21 y de los hemocultivos con 14; para *A. baumannii* el espécimen predominante fue cultivo de orina con cuatro aislamientos y tres de cultivo de herida; mientras que *S. maltophilia* se aisló principalmente en cultivos de herida con ocho aislamientos seguido de secreción bronquial con cuatro aislamientos.

Las tasas de resistencia obtenidas de las cepas aisladas de los microorganismos no fermentadores mencionados con anterioridad se muestran en las *Tablas 1 a 3*.

Se realizó la prueba de colistina de manera aleatoria a 16 cepas de *P. aeruginosa*, identificándose una cepa resistente.

Tabla 1: Tasas de resistencia para *A. baumannii* expresadas en porcentaje (n = 20).

<i>Acinetobacter baumannii</i>			
Familia	Antibióticos	Interpretación	
		Intermedio	Resistente
Cefalosporina 1°	Cefazolina (CZO)	0.0	100.0
Nitrofurano	Nitrofurantoína (NIT)	0.0	100.0
Cefalosporina 2°	Cefuroxima (CXM)	0.0	80.0
Penicilina	Ampicilina (AMP)	25.0	75.0
Penicilina/inhibidor	Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)	25.0	75.0
Tetraciclina	Tetraciclina (TE)	0.0	75.0
Trimetoprim y sulfametoxazol	Trimetoprim/sulfametoxazol (STX)	0.0	65.0
Monobactámico	Aztreonam (ATM)	33.3	60.0
Aminoglucósido	Amikacina (AMK)	0.0	50.0
Aminoglucósido	Gentamicina (GEN)	35.0	15.0
Aminoglucósido	Tobramicina (TOB)	26.3	10.5
Fluoroquinolona 2°	Ciprofloxacino (CIP)	5.0	45.0
Fluoroquinolona 3°	Levofloxacino (LVX)	25.0	0.0
Cefalosporina 3°	Ceftriaxona (CRO)	35.0	45.0
Cefalosporina 3°	Cefotaxima (CTX)	20.0	20.0
Cefalosporina 3°	Ceftazidima (CAZ)	0.0	0.0
Cefalosporina 4°	Cefepima (FEP)	5.0	45.0
Penicilina/inhibidor	Piperacilina/tazobactam (TZP)	0.0	42.9
Penicilina/inhibidor	Ampicilina/sulbactam (SAM)	55.0	20.0
Carbapenémico	Meropenem (MEM)	0.0	0.0

Tabla 2: Tasas de resistencia para *S. maltophilia* expresadas en porcentaje (n = 18)

<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			
Familia	Antibióticos	Interpretación	
		Intermedio	Resistente
Trimetoprima y sulfametoxazol	Trimetoprima/sulfametoxazol (STX)	0.0	25.0
Fluoroquinolona 3°	Levofloxacino (LVX)	33.3	0.0
Cefalosporina 3°	Ceftazidima (CAZ)	33.3	66.7

DISCUSIÓN

Las bacterias han desarrollado mecanismos de defensa para lograr sobrevivir a los ataques de agentes que amenazan su reproducción y supervivencia. En respuesta a los esfuerzos internacionales, el 05 de junio de 2018 México emite en el Diario Oficial de la Federación la declaratoria de la obligatoriedad de la Estrategia Nacional de Acción contra la Resistencia a los Antimicrobianos. Surgieron grupos de investigación nacionales como la «Red Temática de Investigación y Vigilancia de la Farmacorresistencia (IN-VIFAR)» que han generado información importante sobre la resistencia bacteriana a nivel nacional; sin embargo, es necesario conocer los fenotipos de resistencia presentes en Chilpancingo, Gro. para que la comunidad médica tenga información local reciente en este tópico. Es por ello que se realizó una investigación de la farmacorresistencia de bacterias no fermentadoras procedentes de muestras

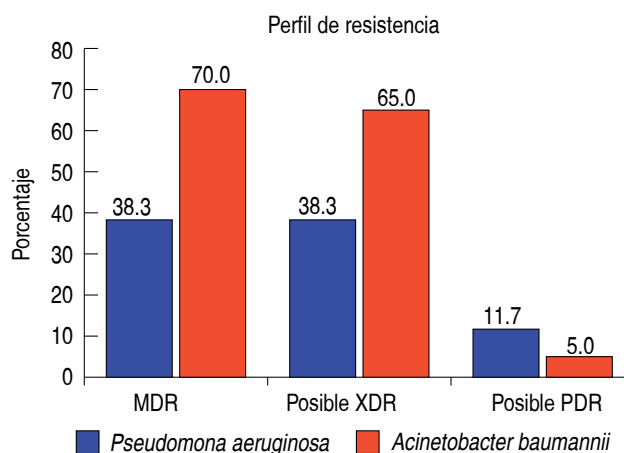


Figura 1: Perfiles de resistencia identificadas en cepas de Chilpancingo, Guerrero.

MDR = Multidrogorresistente, XDR = multidrogorresistencia extendida, PDR = pandrogorresistencia.

Tabla 3: Tasas de resistencia para *P. aeruginosa* expresadas en porcentaje (n = 128).

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
Familia	Antibióticos	Interpretación	
		Intermedio	Resistente
Cefalosporina 1º	Cefazolina (CZO)	0.0	100.0
Cefalosporina 2º	Cefuroxima (CXM)	0.0	100.0
Penicilina	Ampicilina (AMP)	0.0	99.2
Nitrofurano	Nitrofurantoína (NIT)	1.8	98.2
Cefalosporina 3º	Ceftriaxona (CRO)	0.0	97.6
Penicilina/inhibidor	Ampicilina/sulbactam (SAM)	3.1	93.8
Penicilina/inhibidor	Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)	7.7	92.3
Trimetoprim y sulfametoxazol	Trimetoprima/sulfametoxazol (SXT)	0.0	89.5
Cefalosporina 3º	Cefotaxima (CTX)	0.0	84.6
Fluoroquinolona 3º	Levofloxacino (LEV)	0.0	46.2
Fluoroquinolona 2º	Ciprofloxacina (CIP)	7.8	23.4
Aminoglucósidos	Tobramicina (TOB)	2.5	18.5
Aminoglucósidos	Amikacina (AMK)	0.0	16.4
Aminoglucósidos	Gentamicina (GEN)	8.6	7.0
Penicilina/inhibidor	Piperacilina/tazobactam (TZP)	12.9	14.5
Cefalosporina 4º	Cefepima (FEP)	11.9	10.2
Cefalosporina 3º	Ceftazidima (CAZ)	0.0	7.7
Carbapenémico	Meropenem (MEM)	2.4	20.8
Carbapenémico	Imipenem (IMP)	23.1	7.7

aisladas en el Hospital «Dr. Raymundo Abarca Alarcón» y el Laboratorio BIOCLIN de Chilpancingo, Guerrero, durante el año 2018.

Es conveniente considerar que *A. baumannii* tiene resistencia intrínseca a β -lactámicos del grupo de las cefalosporinas de la generación como cefazolina (CZO) y de segunda generación como cefuroxima (CXM) a penicilinas como ampicilina (AMP) y amoxicilina combinada con ácido clavulánico (AMC) y a los monobactámicos aztreonam (ATM) así como a nitrofurantoína (NIT), tetraciclina (TE) y STX,¹³ los cuales se reportan en la presente investigación porque vienen integrados en los antibiogramas de los paneles comerciales; sin embargo, no se recomienda utilizarlos con la técnica manual de Kirby Bauer. Dentro de los aminoglucósidos en los que no se tiene documentada la resistencia intrínseca,¹³ el antibiótico que mostró una resistencia más relevante fue amikacina (AMK) con 50% y piperacilina/tazobactam (TZP) con 42.9% en comparación con Garza-González y colaboradores (2018), quienes reportaron una resistencia nacional de 73.7% a TZP;¹⁴ Garza-González y su equipo (2010) informan sobre una resistencia a ciprofloxacina (CIP) de 94%,¹⁵ en contraste, con los resultados de la presente investigación se observó CIP con 45% de resistencia. Con base en esta investigación se identificó que el antibiótico de mayor sensibilidad para *A. baumannii* son cefalosporinas de tercera generación como ceftazidima (CAZ) o carbapenémicos como meropenem (MEM), obteniendo 100% en ambos casos.

S. maltophilia se caracteriza por su resistencia intrínseca a la mayor parte de los antibióticos (incluidos los carbapenémicos),¹³ lo cual hace más difícil su tratamiento. Los antibióticos a los que por lo regular es más sensible son SXT y quizá algunas quinolonas de tercera generación como levofloxacino (LVX) o moxifloxacino (MXF). En las cepas aisladas se documentó 25% de resistencia frente a STX; y una resistencia intermedia de 33.3% a LVX, en comparación con reportes nacionales de resistencia de 8.8% a STX y 11.1% a LVX en bacterias aisladas del tracto respiratorio.¹⁴

P. aeruginosa es naturalmente resistente a la mayoría de las penicilinas como AMP, AMC y ampicilina/sulbactam (AMS), a cefalosporinas de primera generación como CZO, de segunda generación como CXM y de tercera generación como CRO y CTX, salvo CAZ; también muestra resistencia intrínseca a NIT y SXT. En la Tabla 3 podemos observar que en todos los casos se presenta resistencia (total o intermedia) a los antibióticos. Al omitir los resultados de los antibióticos con resistencia intrínseca podemos observar una resistencia a LVX (quinolona de tercera generación) con 46.2% y de 23.4% a CIP (quinolona de segunda generación), siendo éstos los antibióticos

con mayor resistencia seguidos del carbapenémico MEM que tiene una resistencia de 20.8% en comparación con Elvira Garza-González y colaboradores (2018), quienes reportaron resultados similares con una resistencia de 22.4% a LVX, 18.6% para CIP y para MEM de 27.8%.¹⁴ El antibiótico con mayor sensibilidad observado en la presente investigación fue CAZ (cefalosporina tercera generación) con 7.7% de resistencia, porcentaje mínimo en comparación con los diferentes antibióticos ensayados. Mientras que Douglas J y su equipo (2016) en una investigación realizada en Vietnam reportan para *P. aeruginosa* una importante resistencia a CAZ con 45.8%, 43.9% a LVX y a MEM con 38.4%,¹⁶ datos que muestran una similar resistencia con las cepas analizadas en esta investigación.

Se analizaron los perfiles de resistencia, observando que *A. baumannii* tuvo la tasa más alta de multidrogorresistencia (MDR) con 70% y 5% de posible pandrogorresistencia (posible PDR), mientras que *P. aeruginosa* mostró 38.3% de bacterias MDR y posible multidrogorresistencia extendida (posible XDR), y la tasa más elevada de posibles PDR con 11.7% (Figura 1).

Cabe resaltar que dentro de las bacterias aisladas se identificaron fenotipos de resistencia de alerta epidemiológica como en el caso de *S. maltophilia* resistente a STX, en el que se identificó una resistencia de 25% y *P. aeruginosa* dando una resistencia a carbapenémicos como imipenem (IMP) de 7.7% y a MEM de 20.8%.

Estos resultados demuestran que en las cepas aisladas en Chilpancingo, Guerrero, se encuentran fenotipos considerados por la OMS de alerta epidemiológica de prioridad crítica, que incluyen *S. maltophilia*, *A. baumannii* y *P. aeruginosa*.

REFERENCIAS

1. Rodríguez-Noriega E, León-Garnica G, Petersen-Morín S, Pérez-Gómez H, González-Díaz E, Morfín-Oter R. La evolución de la resistencia bacteriana en México, 1973-2013. *Biomédica*. 2014; 34 (Supl. 1): 181-190.
2. López-Galván M. Frecuencia de bacterias patógenas su patrón de sensibilidad antibiótico en el HGR n° 25 en relación con el cuadro básico de medicamentos [Tesis de licenciatura]. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; 2013. pp. 2-23.
3. Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2017. pp. 1-11.
4. Pérez-Faraldo B, González-Isla F. Infecciones por bacilos gramnegativos no fermentadores: agentes etiológicos de infecciones asociadas a la atención sanitaria. *Correo Científico Médico*. 2017; 21 (4): 1197-1200.
5. Íñigo-Pestaña M, Del Pozo J. Infecciones por bacilos Gram negativos no fermentadores: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* y *Stenotrophomonas maltophilia*. *Elsevier*. 2018; 50: 2931-2940.

6. Fariñas MC, Martínez-Martínez L. Infecciones causadas por bacterias Gram negativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos Gram negativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2013; 31 (6): 402-409.
7. Paz-Zarza V, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez S, Vázquez-López R. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Patogenia*. 2019; 36 (2): 180-189.
8. Callejas-Díaz A, Fernández-Pérez C, Ramos-Martínez A, Muñoz-Rubio E, Sánchez-Romero I, Vargas-Núñez JA. Impacto de la bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital de tercer nivel: mortalidad y factores pronósticos. *Medicina Clínica*. 2019; 3 (152): 83-89.
9. Nicolau CJ, Oliver A. Carbapenemasas en especies del género *Pseudomonas*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010; 28 (1): 19-28.
10. Venegas-Múnera J, Roncancio-Villamil G, Jiménez-Quiceno J. *Acinetobacter baumannii*: importancia. *CES Med*. 2014; 28 (2): 233-246.
11. Barletta-Farías C, Pérez-Ponce LJ, Castro-Vega G, Pujol-Pérez M, Barletta del Castillo JE, Dueñas-Pérez Y. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: un reto para la terapéutica actual. *Medisur*. 2018; 16 (2): 322-334.
12. Huertasa F, Lacayo-Pallais V, Isabel M. Neumonía por *Stenotrophomonas maltophilia*. *Acta Méd Costarric*. 2014; 56 (1): 27-30.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 29th ed. CLSI document M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA: 2018.
14. Garza-González E, Morfín-Otero R, Mendoza-Olazarán S, Bocanegra-Ibarias P, Flores-Treviño S, Rodríguez-Noriega E et al. A snapshot of antimicrobial resistance in Mexico. Results from 47 centers from 20 states during a six-month period. *PLoS One*. 2019; 14 (3): e0209865.
15. Garza-González E, Llaca-Díaz J, Bosques-Padilla F, González G. Prevalence of multidrug-resistant bacteria at a tertiary-care teaching hospital in México: special focus on *Acinetobacter baumannii*. *Chemotherapy*. 2010; 56: 275-279.
16. Biedenbach DJ, Giao PT, Hung Van P, Su Minh Tuyet N, Thi Thanh Nga T, Phuong DM et al. Antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from patients with hospital-acquired or ventilator-associated *Pneumonia* in Vietnam. *Clin Ther*. 2016; 38 (9): 2098-2105.



Hemostasia y factores asociados a tendencia trombótica

Hemostasis and factors associated with thrombotic tendency

Rodríguez Dávila Sinaí del Carmen,* Guzmán Silahua Sandra,*
Barreno Rocha Sonia Guadalupe,* Rubio Jurado Benjamín,*[‡]
Nava Zavala Arnulfo Hernán*^{§,||}

Palabras clave:

Coagulación,
dímero-D, fibrinólisis,
hemostasia,
trombofilia,
trombosis.

Keywords:

Coagulation,
D-dimer, fibrinolysis,
hemostasis,
thrombophilia,
thrombosis.

* Unidad de Investigación Biomédica 02, UMAE, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

[‡] Departamento Clínico de Hematología, División Onco-Hematología. División de Extensión, Consultoría e Investigación, Universidad de Monterrey.

[§] School of Medicine Universidad Autónoma de Guadalajara. Guadalajara Jalisco, México.

^{||} Departamento de Inmunología y Reumatología, Hospital General de Occidente, Secretaría de Salud.

Recibido:
10/10/2019

Aceptado:
26/11/2019

RESUMEN

La hemostasia es el mecanismo que mantiene el equilibrio entre los procesos de coagulación y fibrinólisis para reparar de manera fisiológica los eventos de daño vascular. La hemostasia primaria es generada por las plaquetas mediante las fases de adhesión, agregación y una fase de liberación del contenido plaquetario, y la hemostasia secundaria corresponde a la fase de la coagulación sanguínea en la que participan los factores de la coagulación. La activación de la coagulación sanguínea se realiza mediante una vía intrínseca y una vía extrínseca, y de manera integrativa se estudia su activación como el modelo celular de la coagulación que está constituido por las siguientes etapas, 1) iniciación, 2) amplificación, 3) propagación y 4) estabilización del coágulo. En este modelo celular se enfatiza que la activación secuencial de los factores de la coagulación tiene lugar en una superficie celular donde se forma la red de fibrina y el coágulo. La trombofilia es la condición clínica que condiciona una tendencia trombótica, la cual puede estar dada por la presencia de factores hereditarios o factores adquiridos, y uno de los biomarcadores de escrutinio de activación de la coagulación presente en un estado trombofílico es el dímero-D.

ABSTRACT

Hemostasis is the mechanism that maintains the balance between coagulation and fibrinolysis processes to physiologically repair vascular damage events. Primary hemostasis is generated by platelets through the phases of adhesion, aggregation and a phase of platelet content release and secondary hemostasis corresponds to the blood coagulation phase in which the coagulation factors participate and are activated. The activation of blood coagulation is given by an intrinsic and extrinsic pathway, and integratively studied its activation as the cellular model of coagulation that is constituted by the following stages, 1) initiation, 2) amplification, 3) propagation and, 4) clot stabilization. In this cellular model it is emphasized that the sequential activation of coagulation factors occurs on a cell surface where the fibrin network and the clot are formed. Thrombophilia is a clinical condition that conditions a thrombotic tendency which may be due to the presence of inherited factors or acquired factors, and one of the biomarkers of coagulation activation screening present in a thrombophilic state is D-dimer.

INTRODUCCIÓN

La hemostasia es un mecanismo cuyo principal papel es mantener el equilibrio entre los procesos de coagulación y fibrinólisis,^{1,2} siendo el mecanismo fisiológico mediante el cual se reparan eventos microhemorrágicos, se activa la cascada de la coagulación, se forma un coágulo y se repara el daño en la pared vascular.³

El sistema hemostático es esencial para la homeostasis y así mantener el equilibrio del medio interno a través de tres procesos: activación y amplificación de la coagulación,

inhibición de la coagulación y la fibrinólisis. Los componentes secuenciales de la hemostasia se muestran en la siguiente sección.

Hemostasia primaria

Los acontecimientos que ocurren en la hemostasia primaria pueden ser desencadenados en respuesta a un daño en la pared vascular o por activación del endotelio sin daño físico (endotelio activado).⁴

En presencia de daño vascular ocurre la activación y agregación plaquetaria, seguida

Correspondencia:
Arnulfo Hernán Nava-Zavala, MD PhD
 Unidad de Investigación Biomédica 02, UMAE HE CMNO, Instituto Mexicano del Seguro Social.
 Juan Palomar y Arias 658, Col. Prados Providencia. Guadalajara Jalisco, México. CP 44670.
E-mail: navazava@yahoo.com.mx

de una serie de interacciones entre el endotelio activado, las proteínas plasmáticas y los leucocitos con la finalidad de reparar el sitio que ha sufrido el daño.

Las plaquetas experimentarán una serie de reacciones en las que se incluye la adhesión, la agregación y la liberación del contenido de sus gránulos, estos cambios morfológicos conducen a la formación del tapón plaquetario. La adhesión plaquetaria es regulada por familias de receptores de superficie denominadas glucoproteínas y la agregación plaquetaria es favorecida por la acción del factor von Willebrand (vWF), quien ejerce su función como intermediario entre el colágeno expuesto del tejido y las plaquetas. La superficie de las plaquetas sufre cambios morfológicos que conllevan al reordenamiento de la membrana y la expresión de fosfolípidos cargados negativamente. Las plaquetas liberan de sus gránulos tromboxano A₂, ADP, calcio y serotonina. Con esto se logra mayor agregación plaquetaria y contracción de la musculatura lisa de la pared vascular.^{4,5}

Hemostasia secundaria

Ésta se caracteriza por la activación de la cascada de la coagulación. Se reconocen dos vías de la activación de la coagulación, una vía extrínseca y una vía intrínseca, y se propone un modelo celular de la coagulación (Figura 1). Las dos vías convergen en una vía común que conduce a la formación y generación de la trombina.⁶

Los elementos que son los factores de la coagulación se representan en número romano según su descubrimiento: I fibrinógeno, II protrombina, III factor tisular (tromboplastina), IV calcio, V proacelerina, VII proconvertina, VIII factor antihemofílico A, IX factor Christmas o factor antihemofílico B, X factor de Stuart Prower, XI antecedente o precursor de tromboplastina plasmática, XII factor Hageman y XIII factor estabilizador de la fibrina.

Cascada de la coagulación

La cascada de la coagulación es una secuencia de activación de los factores de la coagulación,

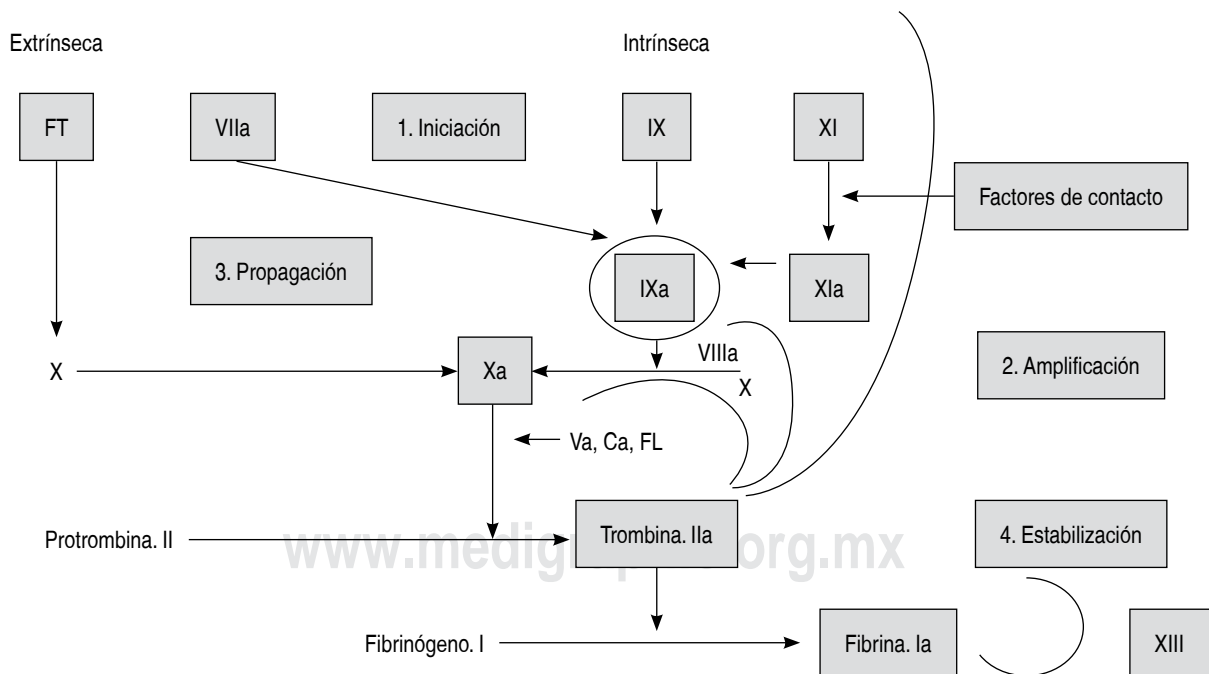


Figura 1: Modelo clásico y celular de la coagulación.

Modificado de: Rubio-Jurado B, Salazar-Páramo M, Medrano-Muñoz F, González-Ojeda A, Nava A. Trombofilia, autoinmunidad y trombotoprolaxis perioperatoria. Cir Cir. 2007; 75 (4): 313-321.

lo que genera la formación de trombina que actúa sobre el fibrinógeno y produce la fibrina, constituyente principal del coágulo.⁷

La vía extrínseca. La activación de la coagulación por esta vía inicia con la unión del factor tisular (FT) en la circulación con el factor VII. Después, tanto el factor IX como el factor X son activados por el complejo FVIIa-FT en FIXa y FXa para amplificar de esta forma el sistema activado del factor VII.⁴

El factor X activado es un elemento importante en el proceso de coagulación, éste activa la protrombina (factor II).⁶

La vía intrínseca. Inicia con la activación del factor XII, la precalicreína, el cimógeno AMP y el factor XI. A continuación el factor XIa activará el FXI y formará un complejo con el FVIII que se encuentra unido al factor von Willebrand circulante y que, luego, en conjunto tendrán la función de activar el factor X para incorporarlo a la vía común y activar la protrombina.^{4,6}

La vía común. Este proceso inicia con la participación del factor Xa y Va, los cuales se unen a las plaquetas activadas para formar el complejo protrombinasa, esto con la finalidad de formar trombina a partir de la protrombina. La primera trombina generada activará en su mayoría al FV. Además, la trombina también activa el factor VIII, el cual circula unido al factor vWF y se libera en el proceso de activación medido por la trombina. La trombina generada activa el factor XIII y el inhibidor de fibrinólisis activable de trombina (TAFI).⁴ La protrombina continuará activándose incluso posterior a la generación del coágulo.⁴

La trombina y la plasmina actúan en los pasos finales de la activación de la coagulación y del sistema de fibrinólisis, por esta razón su actividad dará como resultado cambios en la concentración del fibrinógeno, formación de fibrina y en los productos finales de la degradación de la fibrina.⁸

La activación de la coagulación dependiente de la interacción entre el factor tisular y el factor VII se denomina vía extrínseca, mientras que la vía intrínseca involucra al factor XII, el cimógeno de alto peso molecular (factor de Fitzgerald-Williams-Flaujeau) el factor XI y la precalicreína. En la vía propuesta del modelo celular interviene el factor tisular, FVIIa, FXa, etcétera.^{4,9}

Modelo celular de la coagulación. Tras un daño endotelial, las plaquetas se adhieren y agregan al sitio de lesión mediante la participación de receptores y moléculas solubles circulantes. Las células endoteliales, ante el daño vascular, expresan por medio de micropartículas el factor tisular que al unirse al FVIIa generan cantidades suficientes de trombina y múltiples efectos en otros factores de la

coagulación. Esta serie de reacciones produce la formación de grandes cantidades de fibrina que estabilizan la acción de la trombina y forman el coágulo.

Este modelo identifica las células en cuya membrana se expresa el factor tisular como ocurre en los monocitos, neutrófilos, fibroblastos y principalmente en las plaquetas. Las membranas de estas células son identificadas como los sitios donde se lleva a cabo la activación de la coagulación. Además, este modelo determina la importancia del complejo TF/FVIIa en la activación del sistema.⁷

El modelo celular divide a la coagulación en cuatro fases: iniciación, amplificación, propagación y estabilización del coágulo.¹⁰

Fase de iniciación: ante un daño vascular, las diversas células endoteliales son expuestas al flujo sanguíneo y son capaces de expresar factor tisular. El factor tisular se une al factor VII formando el complejo FT/FVIIa que activará de manera directa al factor X e indirectamente al FIX. El FXa se une al FVa para formar un complejo protrombinasa que convierte la protrombina (FII) en trombina en cantidades no suficientes para la formación de fibrina.⁷

Fase de amplificación: la trombina generada activa a las plaquetas unidas al colágeno subendotelial y al factor von Willebrand. La trombina activa el FV para amplificar la actividad protrombinasa y activa el FVIII que es cofactor del FIXa y así mantener la expresión del FXa, también la trombina activa el FXI. En esta fase se lleva a cabo la activación de los anticoagulantes naturales.⁷

Fase de propagación: en la superficie de las plaquetas, el FXIa activa el FIX y al unirse al FVIIIa cataliza la conversión de FX en FXa dando lugar a la formación del complejo FXa/FVa + Ca que catalizará la conversión de trombina suficiente para la formación de fibrina.

Por último, la **estabilización del coágulo:** la trombina activará el FXIII para conferir los enlaces covalentes de la cadena de fibrina para la formación del coágulo y del TAFI.⁷

Anticoagulantes naturales

El sistema de coagulación es regulado por mecanismos inhibitorios con la finalidad de evitar una trombosis. Entre esos mecanismos incluyen la inhibición de las enzimas procoagulantes, los procesos fibrinolíticos y la depuración hepática de los factores de la coagulación activados. Los anticoagulantes naturales son antitrombina III, proteína C, proteína S y el TFPI.⁶

La antitrombina III inhibe la acción de las proteasas como el factor Xa, IXa, XIa, XIIa y en menor proporción a la trombina. Las proteínas C y S inhiben las funciones del factor VIIIa y Va. Estas proteínas son dependientes de

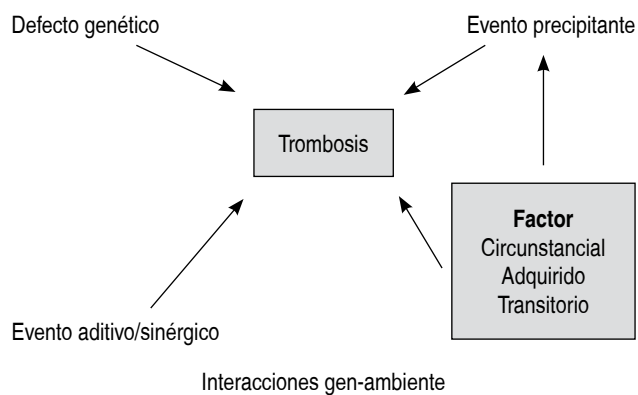


Figura 2: Hemostasia y factores asociados con tendencia trombotica en el modelo patogénico multicausal de trombosis.

Modificado de: Rubio-Jurado B, Salazar-Páramo M, Medrano-Muñoz F, González-Ojeda A, Nava A. Trombofilia, autoinmunidad y tromboprofilaxis perioperatoria. *Cir Cir.* 2007; 75 (4): 313-321.

la vitamina K y son activadas por la trombina. Por último, el TFPI, inhibe la acción del factor tisular.¹¹

El sistema fibrinolítico

La fibrinólisis está regulada por factores, inhibidores y receptores.² El sistema de la fibrinólisis es una cascada enzimática de activadores e inhibidores que regula la conversión de plasminógeno en plasmina. La función principal de la plasmina consiste en digerir proteolíticamente a la fibrina y de este modo limitar la extensión de los trombos e incluso degradar los ya existentes. El proceso de fibrinólisis está constituido además de la plasmina, por su precursor el plasminógeno, activadores del plasminógeno e inhibidores de la actividad del plasminógeno (PAI-1, la antiplasmina $\alpha 2$ y el TAFI). Los activadores del plasminógeno son liberados en respuesta a la trombina y en las circunstancias que generan estasis venosa.⁶

Los elementos que intervienen en el mecanismo de la fibrinólisis se dividen en:

- Activadores, como el activador tisular del plasminógeno (t-PA), el activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA) y receptor del activador tipo uroquinasa (uPAR o CD87).
- Inhibidores, como el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI), inhibidores de la plasmina ($\alpha 2$ -antiplasmina).
- Un incremento en la actividad del sistema de fibrinólisis favorece la aparición de trastornos hemorrágicos,

mientras que el defecto de la actividad fibrinolítica puede predisponer a la trombosis.

Productos de degradación de la fibrina

La medición de las concentraciones de los productos resultantes de los procesos de coagulación y de fibrinólisis nos permite evaluar el equilibrio hemostático. A través de los años se ha intentado encontrar alguna prueba de laboratorio que pueda proporcionar información acerca de estos procesos. La prueba del dímero-D (DD) ha demostrado su destacado papel en estas circunstancias.^{1,12}

Posterior a la activación de la coagulación, el sistema se autorregula mediante el sistema fibrinolítico con sus elementos de activación e inhibición, generando los productos de degradación de la fibrina, el estudio de estos elementos permite el monitoreo de la activación de la coagulación.

TROMBOFILIA

El término trombosis hace referencia al proceso por el cual se forman los trombos o en el que existe la presencia de coágulos en la vasculatura, ya sea venosa o arterial. La causa por la cual se desencadena la trombosis no siempre es clara, y es una de las principales causas de mortalidad en el mundo. La fisiopatología de la trombosis se considera multifactorial, en la *Figura 2* se esquematiza esta condición.¹³ La trombosis se estudia desde tres factores interrelacionados: 1) anomalías en la pared vascular, 2) anomalías en el flujo sanguíneo y, 3) anomalías en los componentes de la sangre, esto es conocido en conjunto como la triada de Virchow. Sus secuelas incluyen isquemia, edema y embolización.^{14,15}

El tromboembolismo venoso es una enfermedad que incluye dos etapas, la trombosis venosa profunda y la tromboembolia pulmonar, las cuales comparten el mismo mecanismo patogénico, factores desencadenantes, profilaxis y tratamiento, pero que se comportan de forma diferente debido a la ubicación en las que se desarrollan.¹⁶

Se reportan diferentes frecuencias según las áreas geográficas analizadas, a pesar de eso, existen múltiples factores que influyen en la mayor parte de la población, de esta forma, se puede decir que se trata de un problema global con diferentes particularidades.¹⁶ La prevalencia, la morbilidad, la mortalidad y los factores asociados con tromboembolismo venoso es mayor en pacientes con cáncer. La incidencia del cáncer asociado a tromboembolismo venoso se presenta en ocho pacientes por cada 1,000 pacientes al año.¹⁷ La trombofilia es una entidad

en la que se identifican factores predisponentes a tromboembolismo. Puede ser hereditaria o adquirida.¹⁸

La trombofilia hereditaria. Se refiere a la presencia de factores genéticos que generan ganancias o pérdida de actividad de algunos elementos relacionados a la coagulación. Deficiencia de los anticoagulantes naturales (antitrombina III, proteína C, proteína S). Generan ganancia en la actividad procoagulante las mutaciones como el factor V (factor V de Leiden) y mutación G20210A de la protrombina, y condiciona un estado de hipercoagulabilidad.¹⁹

Trombofilia adquirida. Se refiere a la presencia de factores adquiridos reconocidos que representan mayor riesgo tromboembólico o condiciones clínicas reconocidas como estados protrombóticos (Figura 3).¹³ El más destacado es el síndrome antifosfolípidos, además de edad, tabaquismo, embarazo, puerperio, obesidad, cáncer, procedimientos quirúrgicos, enfermedades crónicas degenerativas, sepsis, trombocitopenia inducida por la warfarina y la heparina, policitemia vera, síndrome nefrótico, vasculitis, terapia con anticonceptivos orales, entre otros.²⁰

Existen múltiples complicaciones que son generadas por la trombosis, entre las cuales se destaca el embolismo que afecta el pronóstico del paciente. La descripción de la asociación entre el cáncer y la trombosis se establece desde el siglo XIX por Bouillaud y por Armand Trousseau. En la actualidad, se considera que los pacientes con algún cáncer tienen mayor riesgo de presentar un evento trom-

boembólico,²¹ un riesgo adicional es la hospitalización, procedimientos quirúrgicos y la quimioterapia. Los niveles de DD aumentados observados en la enfermedad tromboembólica venosa (ETV) son un indicador reconocido en los pacientes con cáncer y se utilizan de manera habitual para escrutinio en estos pacientes.²² Otros biomarcadores que se encuentran asociados con la presencia de ETV son los biomarcadores que reflejan la activación de la coagulación y el aumento del potencial inflamatorio como la elevación de PCR, leucocitosis y trombocitosis. La coagulación, la inflamación y la fibrinólisis están estrechamente relacionadas.²³

BIOMARCADOR DE ACTIVACIÓN DE LA COAGULACIÓN

Alrededor de 2-3% del fibrinógeno se convierte en fibrina en un estado fisiológico normal y su degradación puede explicar la detección de DD en suero de sujetos sanos (< 500 µg/mL), su eliminación se lleva a cabo principalmente por metabolismo renal y el sistema retículo endotelial, la vida media del DD en la circulación es de ocho horas.¹

La prueba de dímero-D como escrutinio de tromboembolismo venoso

La prueba de DD es una de las pruebas de coagulación que más solicitan los médicos especialistas.¹ Por esta razón, es importante conocer las indicaciones precisas y

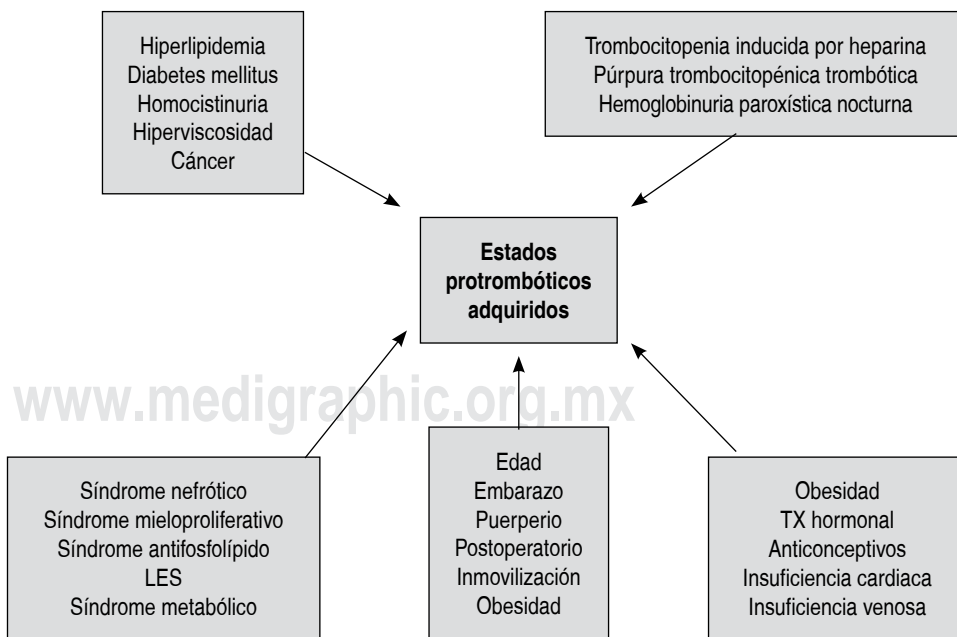


Figura 3:

Estados protrombóticos adquiridos.
Modificado de: Rubio-Jurado B, Salazar-Páramo M, Medrano-Muñoz F, González-Ojeda A, Nava A. Trombofilia, autoinmunidad y trombotipificación perioperatoria. Cir Cir. 2007; 75 (4): 313-321.

Tabla 1: Características y utilidad en práctica clínica de la prueba de dímero-D.

Valor predictivo negativo para el diagnóstico de tromboembolismo venoso:

- Permite monitoreo de la duración de la terapia con anticoagulantes en pacientes con tromboembolismo venoso
- Diagnóstico y manejo de la coagulación intravascular diseminada
- Descartar diagnóstico de la disección aórtica aguda

Valor predictivo positivo y sensibilidad

- Predicción y seguimiento de las complicaciones trombóticas en pacientes con infecciones graves o sepsis
- Detección del riesgo trombótico en pacientes con tumor maligno, el uso de quimioterapia y de factores de crecimiento
- Sospecha de trombo intracardiaco en pacientes con aneurisma del ventrículo izquierdo
- Predicción de accidente cerebrovascular recurrente en pacientes con ictus cardioembólico
- Pronóstico en enfermedad arterial periférica

Modificado de: Thachil J, Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer testing: laboratory aspects and current issues. *Methods Mol Biol.* 2017; 1646: 91-104.

limitaciones de la prueba, ya que múltiples padecimientos pueden generar una elevación de las concentraciones de DD.¹⁴

Cerca de 30 métodos pueden realizarse para la detección de DD, principalmente por ensayos de anticuerpos inmunes, en ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) y también por métodos de inmunoaglutinación.¹²

El aumento en las concentraciones de DD se observa en distintas condiciones clínicas que cursan con trombosis y fibrinólisis, por ejemplo, el embarazo, traumatismos, neoplasias, sepsis, entre otras.^{23,24} El DD es un biomarcador de escrutinio diagnóstico (para tromboembolismo venoso), monitor de tiempo óptimo de anticoagulación y de la evolución de coagulación intravascular diseminada.^{25,26} Recientemente se le han atribuido otras aplicaciones a la prueba de DD, las cuales se muestran en la *Tabla 1*.^{1,27} En pacientes con baja sospecha de tromboembolismo venoso y prueba de DD negativa se puede descartar el diagnóstico de ETV.²⁸ Durante el monitoreo de pacientes con antecedente de ETV y suspensión de la anticoagulación que presentan una elevación de la prueba de DD, la recurrencia de ETV es de 8.9% versus 3.5% en aquéllos con prueba de DD normal.²⁹ La Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia incluye la prueba de DD en el algoritmo diagnóstico de la coagulación intravascular diseminada.¹

CONCLUSIONES

La hemostasia es el mecanismo que mantiene en equilibrio la coagulación y la fibrinólisis para la reparación del daño vascular. El proceso de la hemostasia

primaria corresponde a la activación plaquetaria y la hemostasia secundaria corresponde a la activación de los factores de la coagulación. La activación de la coagulación se genera por una vía intrínseca y una vía extrínseca. El modelo celular de la coagulación establece la importancia de la participación de plaquetas, endotelio y monocitos. La trombofilia es la condición que determina la tendencia trombótica, y puede ser hereditaria o adquirida. El biomarcador más importante de uso clínico en el escrutinio de la activación de la coagulación es el dímero-D.

REFERENCIAS

1. Thachil J, Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer testing: laboratory aspects and current issues. *Methods Mol Biol.* 2017; 1646: 91-104.
2. Chapin JC, Hajjar KA. Fibrinolysis and the control of blood coagulation. *Blood Rev.* 2015; 29 (1): 17-24.
3. Rubio JB, Salazar PM, Nava A. Aspectos básicos sobre trombofilia, inflamación y autoinmunidad. *Residente.* 2012; 7 (1): 16-20.
4. Dahlbäck B. Blood coagulation and its regulation by anticoagulant pathways: genetic pathogenesis of bleeding and thrombotic diseases. *J Intern Med.* 2005; 257 (3): 209-223.
5. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* 2019; 16 (3): 166-179.
6. Bauer KA. Selective inhibition of coagulation factors: advances in antithrombotic therapy. *Semin Thromb Hemost.* 2002; 28 Suppl 2: 15-24.
7. Espitia-Huerter O P. Actualidades en coagulación. *Rev Mex Anest.* 2015; 38 (S1): 143-146.
8. Horan JT, Francis CW. Fibrin degradation products, fibrin monomer and soluble fibrin in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost.* 2001; 27 (6): 657-666.
9. Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27 (8): 1687-1693.
10. Carrillo ER, Salmerón NP, Carvajal RR, Contreras DV, Hernández AC. Rompiendo un paradigma: del modelo humoral al modelo celular

- de la coagulación. Su aplicación clínica en el enfermo grave. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int.* 2004;18 (1): 17-23.
11. Di Nisio M, Middeldorp S, Büller HR. Direct thrombin inhibitors. *N Engl J Med.* 2005; 353 (10): 1028-1040.
 12. Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A test in context: D-dimer. *J Am Coll Cardiol.* 2017; 70 (19): 2411-2420.
 13. Rubio-Jurado B, Salazar-Páramo M, Medrano-Muñoz F, González-Ojeda A, Nava A. Trombofilia, autoinmunidad y tromboprofilaxis perioperatoria. *Cir Cir.* 2007; 75 (4): 313-321.
 14. Kyrle PA, Eichinger S. Deep vein thrombosis. *Lancet.* 2005; 365 (9465): 1163-1174.
 15. Virchow R. *Esammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medicin Frankfurt.* edition SCR, editor. 1856.
 16. Martínez-Murillo C. Hacia un consenso nacional en tromboembolismo venoso. *Gac Méd Méx.* 2000; 136 (S2): S133-137.
 17. Ay C, Pabinger I, Cohen AT. Cancer-associated venous thromboembolism: Burden, mechanisms, and management. *Thromb Haemost.* 2017; 117 (2): 219-230.
 18. Moll S. Thrombophilia: clinical-practical aspects. *J Thromb Thrombolysis.* 2015; 39 (3): 367-378.
 19. Reyes Utiérrez-Tous M. Trombofilia, ¿cuándo, qué pruebas y a quién? *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología.* 2005; 6 (4): 133-143.
 20. Tofler GH, Massaro J, Levy D, Mittleman M, Sutherland P, Lipinska I et al. Relation of the prothrombotic state to increasing age (from the Framingham Offspring Study). *Am J Cardiol.* 2005; 96 (9): 1280-1283.
 21. Pabinger I, Thaler J, Ay C. Biomarkers for prediction of venous thromboembolism in cancer. *Blood.* 2013; 122 (12): 2011-2018.
 22. Halaby R, Popma CJ, Cohen A, Chi G, Zacarkim MR, Romero G et al. D-Dimer elevation and adverse outcomes. *J Thromb Thrombolysis.* 2015; 39 (1): 55-59.
 23. Chalmers JD, Singanayagam A, Scally C, Hill AT. Admission D-dimer can identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *Ann Emerg Med.* 2009; 53 (5): 633-638.
 24. Hargett CW, Tapson VF. Clinical probability and D-dimer testing: how should we use them in clinical practice? *Semin Respir Crit Care Med.* 2008; 29 (1): 15-24.
 25. Mountain D, Jacobs I, Haig A. The VIDAS D-dimer test for venous thromboembolism: a prospective surveillance study shows maintenance of sensitivity and specificity when used in normal clinical practice. *Am J Emerg Med.* 2007; 25 (4): 464-471.
 26. Ho CH. Can very high level of D-dimer exclusively predict the presence of thromboembolic diseases? *J Chin Med Assoc.* 2011; 74 (4): 151-154.
 27. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood.* 2009; 113 (13): 2878-2887.
 28. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J et al. Evaluation of D-dimer in the diagnosis of suspected deep-vein thrombosis. *N Engl J Med.* 2003; 349 (13): 1227-1235.
 29. Verhovsek M, Douketis JD, Yi Q, Shrivastava S, Tait RC, Baglin T et al. Systematic review: D-dimer to predict recurrent disease after stopping anticoagulant therapy for unprovoked venous thromboembolism. *Ann Intern Med.* 2008; 149 (7): 481-90, W94.



In memoriam

Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles

Pérez Jáuregui José C

«En Orihuela, su pueblo y el mío, se me ha muerto como de rayo Ramón Sijé, a quién tanto quería». Así inician los dulces versos que el poeta Miguel Hernández escribió a su amigo con motivo de su fallecimiento.

El Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles nació en la ciudad de Puebla, Puebla, el 25 de septiembre de 1952. Falleció a la edad de 66 años, en la misma ciudad el 25 de julio de 2019.

Obtuvo el título de médico cirujano de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí en 1976 para después continuar sus estudios de postgrado en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (1976-1980) y en la Clínica Mayo en Rochester Minnesota (1980-1982).

Regresó a México para incorporarse a los Laboratorios Clínicos de Puebla, que en 1950 había fundado su padre, el maestro Don Guillermo Ruiz Reyes, donde trabajó el resto de su vida profesional, primero como jefe del Departamento de Inmunología y después como director general, contribuyendo con su actuar cotidiano al florecimiento de la enorme reputación que tiene dicha institución, donde la asistencia, la docencia y la investigación forman parte de la vida diaria.

Desde muy temprano en su etapa de estudiante el Dr. Ruiz-Argüelles inició su prolífica producción científica. Publicó 177 artículos en revistas científicas, 13 cartas al editor, 50 capítulos en libros y tres libros. Su trabajo ha sido citado en la literatura internacional 4,375 veces hasta ahora, siendo uno de los 20 científicos biomédicos mexicanos más citados. Destacan sus trabajos sobre la penetración de autoanticuerpos en las células vivas llevados a cabo con su maestro el Dr. Donato Alarcón-Segovia (QEPD) y el Dr. Luis Llorente. Fue pionero y líder de opinión de la citometría de flujo en

nuestro país y organizó la primera y segunda Conferencias Latinoamericanas de Consenso para la Inmunotipificación de Leucemias.

En 1988 ingresó al Sistema Nacional de Investigadores y a partir de 2004 fue SNI nivel III.

Fue miembro de la Academia Nacional de Medicina, de la Academia Mexicana de Ciencias, Sociedad Mexicana de Inmunología, Asociación Americana de Química Clínica y de la Federación Internacional de Química Clínica, entre muchas más.

El Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles nos ha dejado un gran legado científico para la posteridad y su obra permanecerá viva y latente por muchos años.

Pero esto es apenas una de las facetas de Alejandro Ruiz. Hoy tenemos el privilegio de recordar y reconocer al científico, al maestro, al ser humano y al amigo.

Conocí al Dr. Alejandro, como muchos le hemos llamado siempre, en el año de 1992, cuando me entrevistó como postulante para hacer mi entrenamiento como patólogo clínico en los Laboratorios Ruiz.

Después de un riguroso proceso de exámenes y entrevistas fui aceptado, y ese simple acto que parece banal, la marca de esa palomita, cambió mi vida radicalmente. Y fue entonces que empecé a conocer a Alejandro el maestro.

Fue un maestro riguroso, apasionado por enseñar y enseñar bien. Buscaba la excelencia. No regalaba peces, nos enseñaba a pescar. Un erudito en la inmunología y en las ciencias del laboratorio. Un pensador punzante que nos alentaba a reflexionar, a cuestionarnos, a hacernos preguntas y a buscar las respuestas.

Fue profesor de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla y de la Universidad de las Américas. Formó innumerables alumnos de muchas partes del mundo. Hoy

Director Akulab.

Correspondencia a:
Dr. José C Pérez Jáuregui.
Akulab. Laboratorio de Referencia.
Mérida, Yucatán, 97138.
E-mail: direccion@akulab.com.mx

suman más de 200 el número de exalumnos de los Laboratorios Ruiz, que hoy trabajan o dirigen importantes laboratorios en instituciones públicas y privadas del país.

Dirigió 14 tesis de licenciatura, 12 de maestría, seis de especialidad y dos de doctorado.

Divulgó el conocimiento por todo el mundo dictando conferencias por invitación en Alemania, Austria, Hungría, Suiza, Italia, Israel, Estados Unidos, Canadá, España, Cuba, Brasil, Colombia, Chile, Japón y México, entre otros. Dicen de manera acertada que un profesor trabaja para la eternidad, pues nunca se sabe hasta dónde llegará su influencia.

Recuerdo claramente la ocasión en la que unos meses después de haber terminado mi formación en la Clínica Ruiz, me visitó en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, donde yo trabajaba como jefe del laboratorio, y me dijo: *Ha llegado el momento en que debes dejar de hablarme de «usted». Quiero pedirte por favor que me hables de «tú».*

Ahí mismo inició mi historia con Alejandro el amigo.

Poco a poco y con el paso del tiempo nuestra amistad se fue haciendo más sólida y aun en la distancia, pues vivíamos en ciudades diferentes, la amistad fue madurando y sin darnos apenas cuenta, se fue haciendo añeja. Debo mucho a Alejandro. Siempre creyó en mí. Me regaló sus enseñanzas, las cuales atesoro como algo invaluable, pero sobre todo me privilegió con su amistad y cariño durante 29 largos años, los cuales me han dejado la huella que imprime la presencia de los hombres buenos. Alejandro ha sido mi principal mentor, no sólo en las ciencias médicas, sino en las de la vida, en lo cotidiano y en lo espiritual.

Los últimos tres años de su vida, y por azares del destino, tuve la enorme fortuna de estar muy cercano a él y trabajar juntos. Ese inapreciable tiempo que la vida me brindó me dio la oportunidad de reencontrarme con un Alejandro más maduro, más sabio, más feliz y en paz con la vida.

Fue mi confidente y yo el suyo, en muchas cosas que quedan ahora guardadas en mi memoria. En los momentos más oscuros de mi vida, el amigo estuvo siempre ahí para brindarme consuelo.

A través suyo conocí a sus hijos, Maty, Alejandro y Pablo, y constaté el profundo amor que sentía por ellos.

Fue un hijo amoroso como el que más, hermano generoso y tío predilecto. Siempre vivió rodeado del cariño de su familia y de sus amigos.

Los que le conocimos, hemos podido sentir o ser testigos de las innumerables muestras de cariño y cons-

ternación por su partida prematura. Y aunque vamos a extrañar su presencia física, nos queda el consuelo de saber que nunca se van del alma quienes hicieron magia en nuestras vidas.

Cato disfrutó plenamente de la vida. Era amante del buen comer y de la buena charla. Divertido y agudo, con cierta dosis de sarcasmo fino. Fue reflexivo y profundo, y al mismo tiempo tenía un gran espíritu aventurero. Disfrutaba pintar y sobre todo pasear en su motocicleta.

Alejandro recibió innumerables premios y distinciones a lo largo de su vida. La Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología (en ocho ocasiones), el Gobierno del Estado de Puebla, la Academia Nacional de Medicina, la Sociedad Mexicana de Reumatología y la Universidad Nacional Autónoma de México, entre otros, lo premiaron.

Al respecto, Alejandro siempre me decía que a las personas que quieres y admiras, más que con homenajes, se les debe honrar todos los días con nuestro actuar habitual. He tenido la fortuna de hacer cuatro semblanzas en homenajes al maestro Guillermo Ruiz-Reyes, su padre, y una más para Memo su hermano. Paradójicamente, nunca pude hacer una en vida para mi maestro, y sin embargo, intentaré honrarlo toda mi vida con mi quehacer diario.

A sus hijos, a su padre, hermanos y sobrinos, mi más sentido pésame por la pérdida irreparable de Cato. José Martí dijo que «La muerte no es verdad, cuando se ha cumplido bien la obra de la vida».

Sus amigos, sus alumnos, la familia de la Clínica Ruiz, la Patología Clínica y la comunidad científica lo vamos a extrañar. Nos deja un enorme vacío.

Las almas grandes como Alejandro no desaparecen, dejan huellas eternas, echan fuertes raíces, multiplican sus semillas. La muerte no llega con la partida final, llega con el olvido, y Cato se ha ido, pero permanece en nosotros. Nuestro maestro y amigo se ha ido pero nunca lo olvidaremos.

Quiero terminar citando los últimos versos de la elegía que escribió Miguel Hernández a su amigo:

*A las aladas almas de las rosas
del almendro de nata te requiero
que tenemos que hablar de muchas cosas
compañero del alma, compañero*

Descansa en paz querido maestro.

Instrucciones para los autores

La **Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio** es el órgano oficial de difusión de la Federación Mexicana de Patología Clínica (FEMPAC) y de la Asociación Latinoamericana de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio (ALAPAC/ML). La revista publica artículos originales, casos clínicos, temas de revisión, informe de casos clínicos, notas de historia, editoriales por invitación, cartas al editor y noticias varias de la FEMPAC y la ALAPAC/ML. Para su aceptación, todos los artículos son analizados inicialmente al menos por dos revisores y finalmente ratificados por el Comité Editorial.

La **Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio** acepta, en términos generales, las indicaciones establecidas por el *International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)*. La versión actualizada de las *Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals* se encuentra disponible en www.icmje.org. Una traducción al español de esta versión de las Recomendaciones para la preparación, presentación, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas se encuentra disponible en: www.medigraphic.com/requisitos

El envío del manuscrito implica que éste es un trabajo que no ha sido publicado (excepto en forma de resumen) y que no será enviado a ninguna otra revista. Los artículos aceptados serán propiedad de la **Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio** y no podrán ser publicados (ni completos, ni parcialmente) en ninguna otra parte sin consentimiento escrito del editor. El autor principal debe guardar una copia completa del manuscrito original.

Los artículos deberán enviarse al editor de la **Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**, a la dirección electrónica: alberto.zamora@medigraphic.com

Los requisitos se muestran a continuación en la lista de verificación. El formato se encuentra disponible en www.medigraphic.com/patologiaclinica/instrucciones (PDF). Los autores deberán descargarla e ir marcando cada apartado una vez que éste haya sido cubierto durante la preparación del material para publicación.

La lista de verificación en formato PDF deberá enviarse junto con el manuscrito, también deberá adjuntar la forma de transferencia de derechos de autor. Los manuscritos inadecuadamente preparados o que no sean acompañados de la lista de verificación serán rechazados sin ser sometidos a revisión.

ASPECTOS GENERALES

- Los artículos deben enviarse en formato electrónico. Los autores deben contar con una copia para su referencia.
- El manuscrito debe escribirse con tipo arial tamaño 12 puntos, a doble espacio, en formato tamaño carta, con márgenes de 2.5 cm en cada lado. La cuartilla estándar consiste en 30 renglones, de 60 caracteres cada renglón (1,800 caracteres por cuartilla). Las palabras en otro idioma deberán presentarse en letra itálica (cursiva).
- El texto debe presentarse como sigue: 1) página del título, 2) resumen y palabras clave [en español e inglés], 3) introducción, 4) material y métodos, 5) resultados, 6) discusión, 7) agradecimientos, 8) referencias, 9) apéndices, 10) texto de las tablas, 11) pies de figura. Cada sección se iniciará en hoja diferente. El formato puede ser modificado en artículos de revisión y casos clínicos, si se considera necesario.
- Numeración consecutiva de cada una de las páginas, comenzar por la página del título.

- Anote el nombre, dirección y teléfono de tres probables revisores, que no pertenezcan a su grupo de trabajo, a los que se les puede enviar su artículo para ser analizado.

TEXTO

Página de título

- Incluye:
 - 1) Título en español e inglés, de un máximo de 15 palabras y título corto de no más de 40 caracteres,
 - 2) Nombre(s) de los autores en el orden en que se publicarán, si se anotan los apellidos paterno y materno pueden aparecer enlazados con un guión corto,
 - 3) Créditos de cada uno de los autores,
 - 4) Institución(es) donde se realizó el trabajo y
 - 5) Dirección para correspondencia: domicilio completo, teléfono, fax y dirección electrónica del autor responsable.

Resumen

- En español e inglés, con extensión máxima de 200 palabras.
- Estructurado conforme al orden de información en el texto:
 - 1) Introducción,
 - 2) Objetivos,
 - 3) Material y métodos,
 - 4) Resultados y
 - 5) Conclusiones.
- Evite el uso de abreviaturas, pero si fuera indispensable su empleo, deberá especificarse lo que significan la primera vez que se citen. Los símbolos y abreviaturas de unidades de medidas de uso internacional no requieren especificación de su significado.
- Palabras clave en español e inglés, sin abreviaturas; mínimo tres y máximo seis.

Texto

- Manuscrito que no exceda de 10 páginas, dividido en subtítulos que faciliten la lectura.
- Deben omitirse los nombres, iniciales o números de expedientes de los pacientes estudiados.
- Se aceptan las abreviaturas, pero deben estar precedidas de lo que significan la primera vez que se citen y las de unidades de medidas de uso internacional a las que está sujeto el gobierno mexicano.
- Los fármacos, drogas y sustancias químicas deben denominarse por su nombre genérico, la posología

y vías de administración se indicarán conforme a la nomenclatura internacional.

- Al final de la sección de material y métodos se deben describir los métodos estadísticos utilizados.

Reconocimientos

- Los agradecimientos y detalles sobre apoyos, fármaco(s) y equipo(s) proporcionado(s) deben citarse antes de las referencias. Enviar permiso por escrito de las personas que serán citadas por su nombre.

Referencias

- Se identifican en el texto con números arábigos y en orden progresivo de acuerdo a la secuencia en que aparecen en el texto.
- Las referencias que se citan solamente en los cuadros o pies de figura deberán ser numeradas de acuerdo con la secuencia en que aparezca, por primera vez, la identificación del cuadro o figura en el texto.
- Las comunicaciones personales y datos no publicados, serán citados sin numerar a pie de página.
- El título de las revistas periódicas debe ser abreviado de acuerdo al *Catálogo de la National Library of Medicine (NLM)*: disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals> (accesado 4/Mar/13). Se debe contar con información completa de cada referencia, que incluye: título del artículo, título de la revista abreviado, año, volumen y páginas inicial y final. Cuando se trate de más de seis autores, deben enlistarse los seis primeros y agregar la abreviatura *et al.* Ejemplos:

Artículo de publicaciones periódicas:

Díaz PP, Olay FG, Hernández GR, Cervantes-Villagrana RD, Presno-Bernal JM, Alcántara GLE. Determinación de los intervalos de referencia de biometría hemática en población mexicana. *Rev Latinoamer Patol Clin* 2012; 59 (4): 243-250.

Libros, anotar edición cuando no sea la primera:

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Capítulo de libro:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Para más ejemplos de formatos de las referencias, los autores deben consultar: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Cuadros

- No tiene.
- Sí tiene.
Número (con letra): _____
- La información que contienen no se repite en el texto o en las figuras. Como máximo se aceptan 50 por ciento más uno del total de hojas del texto.
- Están encabezados por el título y marcados en forma progresiva con números romanos de acuerdo con su aparición en el texto.
- El título de cada cuadro por sí solo explica su contenido y permite correlacionarlo con el texto acotado.

Figuras

- No tiene.
- Sí tiene.
Número (con letra): _____
- Se consideran como tales las fotografías, dibujos, gráficas y esquemas. Los dibujos deberán ser diseñados por profesionales. Como máximo se aceptan 50 por ciento más una del total de hojas del texto.
- La información que contienen no se repite en el texto o en las tablas.
- Se identifican en forma progresiva con números arábigos de acuerdo con el orden de aparición en el texto, recordar que la numeración progresiva incluye las fotografías, dibujos, gráficas y esquemas. Los títulos y explicaciones se presentan por separado.

Las imágenes salen en blanco y negro en la versión impresa de la revista. Sin embargo, si las imágenes enviadas son en color, aparecerán así (en color) en la versión electrónica de internet. Si el autor desea que también se publiquen en color en la versión impresa, deberá pagar lo correspondiente de acuerdo con la casa editorial.

Fotografías

- No tiene.
- Sí tiene.
Número (con letra): _____
en color: _____
- Serán de excelente calidad, blanco y negro o en color. Las imágenes deberán estar en formato JPG (JPEG), sin compresión y en resolución mayor o igual a 300 ppp. Las dimensiones deben ser al menos las de tamaño postal (12.5 x 8.5 cm), (5.0 x 3.35 pulgadas). deberán evitarse los contrastes excesivos.
- Las fotografías en las que aparecen pacientes identificables deberán acompañarse de permiso escrito para publicación otorgado por el paciente. De no ser posible contar con este permiso, una parte del rostro de los pacientes deberá ser tapado sobre la fotografía.
- Cada una estará numerada de acuerdo con el número que se le asignó en el texto del artículo.

Pies de figura

- No tiene.
- Sí tiene.
Número (con letra): _____
- Están señalados con los números arábigos que, conforme a la secuencia global, les corresponde.

Aspectos éticos

- Los procedimientos en humanos deben ajustarse a los principios establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM) y con lo establecido en la Ley General de Salud (Título Quinto) de México, así como con las normas del Comité Científico y de Ética de la institución donde se efectuó.
- Los experimentos en animales se ajustan a las normas del *National Research Council* y a las de la institución donde se realizó.
- Cualquier otra situación que se considere de interés debe notificarse por escrito a los editores.

Transferencia de Derechos de Autor

Título del artículo: [Redacted]
[Redacted]
[Redacted]

Autor (es): [Redacted]
[Redacted]
[Redacted]

Los autores certifican que el artículo arriba mencionado es trabajo original y que no ha sido previamente publicado. También manifiestan que, en caso de ser aceptado para publicación en la **Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**, los derechos de autor serán propiedad de esta revista.

Nombre y firma de todos los autores

[Redacted] [Redacted] [Redacted]
[Redacted] [Redacted] [Redacted]

Lugar y fecha: [Redacted]

**Bibliotecas e índices que incluyen en su acervo a la
Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**

Medigraphic Literatura Biomédica
<http://www.medigraphic.org.mx>

Biblioteca de la Universidad de Regensburg, Alemania
<http://ezb.uni-regensburg.de/>

University of Nevada, Reno EU
<http://wx2mz2qh4l.search.serialssolutions.com/?L=WX2MZ2QH4L>

Biblioteca del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
<http://www.revbiomedicas.unam.mx>

Universidad de Laussane, Suiza
<http://www2.unil.ch/perunil/>

Biblioteca de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Artes,
Hochschule Hannover (HSH), Alemania
<http://www.hs-hannover.de/bibl/literatursuche/medien/elektronische-zeitschriften/index.html>

LATINDEX. Sistema Regional de Información en Línea para
Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
<http://www.latindex.org/>

Biblioteca Virtual en Salud (BVS, Brasil)
<http://portal.revistas.bvs.br>

Yeungnam University College of Medicine Medical Library, Korea
http://medlib.yu.ac.kr/journal/subdb1.asp?table=totdb&Str=%B1%E2%C5%B8&Field=ncbi_sub

Biblioteca del Instituto de Biotecnología UNAM.
<http://www.biblioteca.ibt.unam.mx/revistas.php>

Asociación Italiana de Bibliotecas (AIB)
<http://www.aib.it/aib/commiss/cnur/peb/peba.htm3>

Max Planck Institute for Comparative Public Law and International
Law
http://www.mpil.de/en/pub/library/research-tools/ejl.cfm?fuseaction_ezb=mnotation&colors=3&lang=en¬ation=WW-YZ

Wissenschaftszentrum Berlin für Sozialforschung, Berlin WZB
<http://www.wzb.eu/de/literatur-daten/bereiche/bibliothek>

Virtuelle Bibliothek Universität des Saarlandes, German
<http://rzblx1.uni-regensburg.de/ezeit/search.phtml?bibid=SULB&colors=7&lang=de>

Google Académico
<http://scholar.google.com.mx/>

PERIÓDICA: Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias
(UNAM)
<http://periodica.unam.mx>
Total de registros localizados: 390 (como Revista Mexicana) + 37
(como Revista Latinoamericana)

Ulrich's International Periodicals Directory,
00294860 Ulrichs Accession Number: 0611404XXX

Fundación Ginebrina para la Formación y la Investigación Médica,
Suiza
http://www.gfmer.ch/Medical_journals/Revistas_medicas_acceso_libre.htm

Library of the Carinthia University of Applied Sciences (Austria)
<http://rzblx1.uni-regensburg.de/ezeit/fl.phtml?bibid=FHTK&colors=7&lang=en>

Biblioteca electrónica de la Universidad de Heidelberg, Alemania
<http://rzblx1.uni-regensburg.de/ezeit/search.phtml?bibid=UBHE&colors=3&lang=de>

Biblioteca de la Universidad de Bielefeld, Alemania
https://www.digibib.net/jumpto?D_SERVICE=TEMPLATE&D_SUBSERVICE=EZB_BROWSE&DP_COLORS=7&DP_BIBID=UBBIE&DP_PAGE=search&LOCATION=361

Biblat (Bibliografía Latinoamericana en revistas de investigación
científica y social) UNAM
<http://biblat.unam.mx>

Biblioteca de la Universidad Norte de Paraná, Brasil
http://www.unopar.br/bibli01/biologicas_periodicos.htm

Research Institute of Molecular Pathology (IMP)/ Institute of
Molecular Biotechnology (IMBA) Electronic Journals Library,
Viena, Austria
http://cores.imp.ac.at/max-perutz-library/journals/details/?tx_ezbfepi3%5Bjournal_id%5D=15410&cHash=fdad59462ec615fca78fe7904be12aee

Google Books
<http://www.google.com/books?id=IdibHgzyKs8C&lr=&hl=en>

SERVICIO DE REFERENCIA A LABORATORIOS DE TODO EL PAÍS

Procesamiento de pruebas especiales por la metodología más avanzada

- Agregometría Plaquetaria
- Anatomía Patológica
- Cargas Virales (RT-PCR en Tiempo Real)
- Citología Exfoliativa
- Citometría de Flujo Multiparamétrica
- Contrainmunolectroforesis
- Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC)
- Electroforesis
- Electroquimioluminiscencia
- Ensayo Fluorescente Ligado a Enzimas (ELFA)
- Ensayo Inmunoenzimático Ligado a Enzimas (ELISA)
- Espectrometría de Absorción Atómica (AAS)
- Espectrometría de Masas en Tandem (MS/MS)
- Espectrometría de Masas MALDI - TOF
- Espectroscopia de Infrarrojo (IR)
- Genotipos de HIV y HCV
- Hibridación In Situ Fluorescente (FISH)
- Inmunoblot
- Inmunodifusión Radial (RID)
- Inmunoensayo Enzimático (EIA)
- Inmunofijación
- Inmunofluorescencia (IIF)
- Nefelometría
- PCR-LCD Array
- Quimioluminiscencia
- Radioinmunoanálisis (RIA)
- Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
Oligonucleótidos de Secuencia Específica (SSO).
LABScan (Luminex)
- Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real
(PCR Tiempo Real) Cualitativo y Cuantitativo
- Técnica de Inmunoensayo Enzimático Multiplicado (EMIT)
- Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la
Polimerasa (RT-PCR) Multiplex
- Turbidimetría
- Western Blot



Visita nuestro Facebook



El Laboratorio más confiable

