



Bogotá DC, Colombia - 4 al 7 de Noviembre de 2016 - Centro de Convenciones Gonzalo Jiménez de Quesada



XVI CONGRESO INTERNACIONAL DEL COLEGIO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA

MEMORIAS

SESIONES DEL LUNES

Calidad

[Trazabilidad metrológica en el laboratorio: Conceptos y beneficios](#)

Aida Porras Caicedo

[Automatización del análisis de la calidad del semen](#)

Ricardo Gómez Rodríguez

Parasitología y Uroanálisis

[Avances y desafíos en enfermedad de Chagas. Un reto para la Salud pública](#)

Astrid Carolina Flórez Sánchez.

[Situación actual de *Blastocystis*: diagnóstico y significancia clínica](#)

Yesmit Karina Ríos Ramírez

CONFERENCIAS

CALIDAD

Trazabilidad metrológica en el laboratorio: Conceptos y beneficios

Aida Porras Caicedo

Bióloga, Magíster en Biología con énfasis en Bioquímica Clínica, PhD en Gestión. Bogotá.

Antes de empezar por el concepto de trazabilidad metrológica empecemos por sus beneficios, empecemos por decir que en un mundo ideal de medicina de laboratorio o laboratorio clínico según sea la corriente conceptual que se siga tendríamos que el resultado de una medición realizada en una misma muestra de un paciente, de una misma prueba (o mensurando), debiera ser igual independientemente de si el paciente es de estrato socioeconómico alto o bajo, o si el paciente es ambulatorio u hospitalario, lo que quiero decir es que en un mundo ideal de laboratorio clínico, el resultado de la medición debería ser el mismo, obviamente si la muestra es la misma.

Sin embargo sabemos que esa no es la realidad y que nos hace falta muchas implementaciones antes de lograr que los resultados de la cuantificación de un mensurando sea igual si se realiza sobre la misma muestra, sin importar el estrato social, la condición de ambulatorio u hospitalizado, o sin importar si la zona del laboratorio es rural o urbana o si el laboratorio es público o privado. Como pacientes tenemos derecho a que las mediciones realizadas en los laboratorios clínicos a los que asistimos, sean lo más cercanas al valor aceptado como verdadero, Y debemos tener ese derecho, porque cualquier medición alejada de este valor aceptado como verdadero afectará nuestras vidas de una u otra forma, porque los resultados de estas mediciones influirán en los diagnósticos realizados, en los tratamientos indicados y en las conductas a seguir recomendadas.

Los dos párrafos anteriores corresponden a los beneficios de la trazabilidad metrológica, los beneficios de la trazabilidad metrológica corresponden a que los resultados de las mediciones realizadas sobre la misma muestra sean resultados comparables, equivalentes, independientemente del tiempo, la ubicación del laboratorio o el procedimiento realizado, es decir eso significa que los resultados de las mediciones realizadas en los laboratorios clínicos sean armónicos. (Thienpont 2013).

Esta realidad soñada se lograría si todos los laboratorios lográramos realizar trazabilidad metrológica de las mediciones que realizamos al más alto nivel de referencia existente.

Trazabilidad metrológica es la propiedad de un resultado de una medición por la cual el resultado puede ser relacionado a una referencia (procedimiento de medición, material de referencia o laboratorio de referencia), a través de una cadena documentada e ininterrumpida de calibraciones, cada una de las cuales incrementa la incertidumbre de la medición. (BIPM, IFCC et al. 2012). En términos prácticos, significa que si existe un material de referencia para un mensurando, entonces el laboratorio clínico debe utilizar un procedimiento de medición que sea traceable a alguno de los materiales de referencia existente o a algunos de los métodos de referencia existentes y/o al sistema internacional de unidades, SI. Si logra ser traceable a las 3 referencias mencionadas, material y método de referencia y también al Si, entonces seremos traceables a la cadena de trazabilidad metrológica número 1 descrita en la ISO 17511. (ISO 2003). Esta condición a Julio del 2016 solo era posible para 46 magnitudes descritas en la tabla 1.

Tabla 1. Magnitudes con material y método de referencia
Fuente: Elaboración propia a partir de la página web de la JCTLM

	Analito con Material y Método de Referencia		Analito con Material y Método de Referencia		Analito con Material y Método de Referencia
1	17-estradiol	16	creatinine	31	mercury
2	19-norandrosterone	17	digoxin	32	phenobarbital
3	5-methyltetrahydrofolic acid	18	glucose	33	phenytoin
4	albumin	19	haptoglobin (HPT)	34	potassium
5	alkaline phosphatase (ALP)	20	HbA1c	35	progesterone
6	arsenic	21	HDL cholesterol	36	sodium
7	aspartate transaminase (AST - ASAT)	22	homocysteine	37	testosterone
8	cadmium	23	immunoglobulin A (IgA)	38	theophylline
9	chloride	24	immunoglobulin G (IgG)	39	total cholesterol
10	cobalt	25	immunoglobulin M (IgM)	40	total glycerides
11	complement 3c (C3c)	26	lactate dehydrogenase (LDH)	41	transferrin (TRF)
12	complement 4 (C4)	27	LDL cholesterol	42	transthyretin (TTR)
13	copper	28	lead	43	triglycerides
14	cortisol	29	lithium	44	urea
15	creatine kinase (CK)	30	magnesium	45	uric acid
				46	zinc

Según el JCTLM, "Join Comittee of Traceability in laboratory medicine" a Julio del 2016 existían 298 materiales de referencia aprobados por el JCTLM, los cuales

correspondían a 174 magnitudes o analitos, igualmente se reportan 181 métodos de referencia avalados, correspondientes a solo 80 analitos.

Tabla 2. Material, método de referencia y laboratorio de referencia avalado por el JCTL
Fuente: Elaboración propia a partir de la página web de la JCTLM

MATERIALES DE REFERENCIA		MÉTODOS DE REFERENCIA		SERVICIOS DE REFERENCIA	
Variable	Cantidad	Variable	Cantidad	Variable	Cantidad
Materiales de referencia	298	Métodos de referencia	181	Servicios de referencia	145
Analitos con materiales de referencia	174	Analitos con métodos de referencia	80	Analitos con servicios de referencia	41
Productores de materiales de referencia	12			Servicios (Laboratorios) de referencia	25

Si los laboratorios exigimos a los proveedores que sus pruebas son metrológicamente traceables a los 174 materiales de referencia y/o a los 181 métodos de referencia avalados por el JCTL, entonces nos estaremos acercando al sueño de que los resultados emitidas por los laboratorios clínicos sean armonizables sin importar ubicación geográfica, sin importar si el laboratorio es público o privado o si está en una zona rural o urbana e independientemente del estrato social o la condición pública o privada.

Si bien la norma ISO 17511, describe 5 cadenas de trazabilidad metrológica, el peor escenario para los laboratorios clínicos es que los procedimientos que utilizamos se clasifiquen a la cadena de trazabilidad metrológica categoría 5. Tabla 3, pues eso significa que somos traceables al procedimiento y método de cualquier manufacturador, y que en esta forma se pone e riesgo la armonización de los resultados emitidos por los laboratorios clínicos.

Tabla 3. Modelos de trazabilidad metrológica según ISO 17511
Fuente: (ISO 2003)

Categoría	Unidades	Material de Referencia	Procedimiento de medición de referencia	Ejemplo
1.	S.I.	(primario)	Si (primario)	Cortisol
2.	(No S.I.)	Convencional Internacional	Convencional Internacional	
3.	No S.I.)	primario)	No existe	Factores Hemostáticos
4.	No S.I.)	No existe	primario)	HCG
5.	No S.I.)	No existe	No existe	Marcadores tumorales

Referencias

1. BIPM, I., et al. (2012). The international vocabulary of metrology—basic and general concepts and associated terms (VIM)(3rd edn) JCGM 200, entry 1.16.
2. ISO (2003). ISO 17511: In vitro diagnostic medical devices -- Measurement of quantities in biological samples -- Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials.
3. Thienpont, L. (2013). An introduction to metrological traceability in laboratory medicine. CIRME 7th International Scientific Meeting Metrological traceability and assay standardization. Stresa, Italy.

Automatización del análisis de la calidad del semen

Ricardo Gómez Rodríguez

Bacteriólogo. Bogotá.

Los laboratorios que efectúan los análisis del semen tanto a nivel industrial en ganadería como a nivel clínico para el estudio de infertilidad y en procedimientos de fertilización In vitro, por lo general demandan una gran cantidad de tiempo en procesos manuales y confirmaciones sobretodo en lectura microscópica con alta probabilidad de errores, baja estandarización y escasa trazabilidad en muchos de ellos. Otros como algunos centros de referencia, laboratorios de fertilidad, o de investigación clínica e industrial ya utilizan las mejoras tecnológicas disponibles que mejoran la productividad, la eficiencia y la calidad de los resultados.

La utilidad del examen del semen o como se le conoce generalmente “Espermograma”, permite evaluar las características físicas, recuentos celulares (espermatozoides, leucocitos, hematíes, cristales entre otros) y de motilidad (Progresivos rápidos, progresivos lentos e inmóviles), morfología espermática, vitalidad y bioquímica seminal (dosificación de fructosa, zinc principalmente y en algunos casos complementados con estudio del DNA, anticuerpos presentes de tipo fisiológico o investigativo (interacción con moco cervical, interacción espermatozoide-oocito, test de acrosina etc.). Los tipos de especímenes comúnmente utilizados para el examen son muestras frescas (semen obtenido por masturbación), semen congelado, semen lavado mediante preparación con medio enriquecido o preparado mediante procedimientos de capacitación espermática por gradientes de densidad o Swim Up.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) es el referente en el campo de la infertilidad humana y a través del “Manual para el examen y procesamiento del semen humano” el cual va en la quinta edición, ha establecido pautas, criterios y valores de referencia para estandarizar el espermograma, que han servido como base para el desarrollo de instrumentación para el recuento espermático.

El estudio del semen no escapa a los requerimientos de otros especímenes o tipos de muestras utilizadas para la determinación de características físicas, recuentos, cuantificación de partículas o analitos presentes, tales como preparación del paciente, obtención de información completa incluyendo antecedentes clínicos del paciente, correcta obtención de la muestra bajo instrucciones precisas y respectiva preparación previa para su análisis. Por lo tanto, la estandarización comienza con la información del paciente y una muestra obtenida correctamente y preparada lo cual permitirá un adecuado análisis tanto para procedimientos manuales como automatizados.

Automatización en el análisis del semen

La automatización en el análisis de la calidad del semen se ha incorporado principalmente en el manejo de datos del paciente, los recuentos de concentración de motilidad, morfología y en algunos casos de vitalidad espermática y en investigación o en laboratorios muy especializados de andrología el uso de la citometría es empleado para la evaluación de la cromatina espermática.

El recuento manual de concentración espermática en cámara de Makler o Neubauer con microscopio de contraste de fase es el referente inmediato y contra el cual se han validado las dos categorías de analizadores que hay en el mercado: los análisis espermáticos asistidos por computador (llamados en general CASA por su sigla en inglés) y dispositivos que combinan para la evaluación de motilidad, la detección de señales electro-ópticas generadas por el movimiento espermático con tecnología de espectrofotometría para determinar la concentración.

El Análisis Espermático Asistido por Computador se refiere específicamente a un sistema que con base en la captura de imágenes por microscopía y su procesamiento, permite suministrar información de la concentración, motilidad, viabilidad y morfológica espermática.

Dependiendo del tipo y características del dispositivo y del software, requerirá mayor o menor intervención del operador para la manipulación de la muestra, procesos de análisis y obtención de resultados. Para el recuento de concentración la muestra es colocada en una cámara de conteo y mediante el uso de imágenes de alto contraste de fases las imágenes son enviadas al ordenador y a través del software calcula el número de espermatozoides por unidades de volumen. Algunas compañías han complementado la utilidad de la metodología mediante la incorporación de colorantes fluorescentes del DNA para mejores evaluaciones identificaciones y análisis de la concentración. La motilidad se determina mediante el seguimiento y comparación computarizada de imágenes consecutivas teniendo como base una imagen inicial y estimando el desplazamiento en las imágenes subsiguientes ó también es determinada mediante la evaluación del movimiento oscilatorio de los espermatozoides y la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza.

La otra metodología de amplio uso en laboratorios alrededor del mundo, utiliza un dispositivo desechable en el cual se aspira un volumen determinado de muestra la cual se aloja en dos cámaras, una de ellas para el recuento de concentración y otra para la motilidad. El dispositivo se introduce en el analizador el cual de manera automatizada y en menos de 2 minutos efectúa los recuentos. Para la determinación de la concentración, la cámara correspondiente es atravesada por un rayo de luz de una longitud de onda específica, y la señal lumínica absorbida de acuerdo con la cantidad de espermatozoides presentes se convierte en densidad óptica que a través de un microprocesador y algoritmos patentados permiten calcular la cantidad espermática presente en la muestra. Para la motilidad en la cámara respectiva a través de un haz de luz incidente sobre los espermatozoides móviles generan perturbaciones de luz que son transformadas en variaciones de voltaje por segundo en forma de picos y valles valores que mediante algoritmos son convertidos en porcentajes y valores absolutos de movilidad espermática. La morfología normal que reporta este sistema analítico es calculada con base en la velocidad espermática, la motilidad total y progresiva. Esto se complementa con la disponibilidad de videos en tiempo real y fotos que el usuario puede seleccionar y almacenar para efectos de seguimiento.

El diseño de dispositivos compactos ha incrementado su uso a nivel clínico humano pero sobretodo en la industria ganadera para el mantenimiento y control de la reproducción de especies productivas e investigación.

Control de Calidad de las tecnologías automatizadas

Para las tecnologías disponibles, existe material de control como partículas de látex para control interno y muestras estabilizadas de semen para control externo están disponibles para la evaluación de la de calidad de los resultados obtenidos en los analizadores para el análisis del semen. Aunque el manual de la OMS ha descrito parámetros de calidad a implementar en los laboratorios, estos están enfocados hacia los procesos manuales de recuento principalmente, sobretodo porque son los más susceptibles de error humano teniendo en cuenta la subjetividad y nivel de entrenamiento entre otros aspectos, que generan variabilidad en los análisis pero que con la automatización pueden mejorarse. Es recomendable sin importar el tamaño o la complejidad, que cada laboratorio efectúe el análisis de calidad del semen e implemente técnicas estandarizadas y un programa de garantía de calidad de acuerdo con métodos y procedimientos normalizados, para garantizar resultados seguros. En determinados contextos, los recursos disponibles pueden no permitir la plena aplicación de los procedimientos descritos en guías como el manual de la OMS. Sin embargo, los parámetros fundamentales de la concentración de espermatozoides, la morfología y la motilidad siempre deben ser evaluados y verificados a través del control de calidad interno y, cuando sea posible, por un control de calidad externo. Además, el uso de los métodos manuales como referente debe tenerse a la mano para resolver situaciones que pueden producirse por limitaciones de los métodos automatizados.

La tecnología avanza y los desarrollos tecnológicos a costos razonables están al alcance.

La confiabilidad, rapidez, estandarización, minimización de errores humanos, trazabilidad son algunos de los beneficios que la automatización en el análisis de la calidad del semen brinda para la seguridad del paciente, mejoramiento en procesos y productividad del Laboratorio clínico de general y especializado, centros de fertilidad, laboratorios veterinarios y de investigación ganadera.

Referencias

1. Ashok Agarwal, Ph.D., Rakesh K. Sharma, Ph.D. Automation is the key to standardized semen analysis using the automated SQA-V sperm quality analyzer. *Fertil Steril.* 2007 Jan;87(1):156-62. Epub 2006 Nov 1.
2. Azis N. The importance of semen analysis in the context of azoospermia. *Clinics.*;68(S1):35-38; 2013.
3. Ferrara F., Daverio R. Automation of Human sperm cell analysis by Flow Citometry. *Clinical Chemistry* 43:5 801-807 (1997)
4. Hirano Y et Al. Accuracy of sperm velocity assessment using Sperm Quality Analyzer V. *Reproductive Medicine and Biology.* 2: 151-157; 2003.
5. Sharon T Mortimer¹, Gerhard van der Horst, David Mortimer . The future of computer aided sperm analysis CASA. *Asian Journal of Andrology* (2015) 17, 545–553. 2015
6. Lu J. C. Huang, Y. F. ., Lü N. Q. Computer-aided sperm analysis: past, present and future *Andrologia* Vol: 46 (4) :329-338. 2014
7. J. Lammers, Splingart C., Barriere P. , Jean M, T Freor. Double -blind prospective sttudy comparing two automated sperm analyzers versus manual semen assessment. *J Assist. Reprod. Genet.* January 2014, Volume 31, Issue 1, pp 35–43
8. WHO. laboratory manual for the Examination and processing of human semen. 5a Ed.2010 La tecnología avanza y los desarrollos tecnológicos a costos razonables están al alcance.

PARASITOLOGÍA Y UROANÁLISIS

Avances y desafíos en enfermedad de Chagas. Un reto para la Salud pública

Astrid Carolina Flórez Sánchez.

Bacterióloga y Laboratorista Clínica, Magister en Microbiología. Instituto Nacional de Salud.
Bogotá, Colombia.

La Enfermedad de Chagas, un evento de interés en Salud Pública en Colombia, cuyo agente etiológico corresponde a un hemoparásito flagelado que posee un estadio intracelular, el *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), descubierto hace más de 100 años, exactamente en el año de 1909 por el investigador brasileño Carlos Ribeiro Justiniano Chagas.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen actualmente en América Latina 5.274 casos anuales de transmisión vectorial, 1.046 casos de transmisión congénita y una población de 4.813.543 expuesta en zonas endémicas (1). En Colombia, se han realizado diversos estudios y se han reportado casos de infección vectorial, congénita y de casos de transmisión oral que desde el año 1999 se encuentran reportados y lamentablemente a través de esta forma de transmisión es que se han documentado las mortalidades en nuestro país (2).

La enfermedad cursa con dos fases clínicas, una aguda que puede cursar de manera asintomática o con manifestaciones clínicas poco evidentes que suceden días después de la exposición a la infección, algunas veces caracterizada por malestar general y fiebre por más de siete días a diferencia de la fase crónica, la cual es silente y puede permanecer latente durante mucho tiempo después de la infección, los parásitos se alojan en diferentes órganos, entre ellos el tejido digestivo y cardiaco, ocasionando con el tiempo alteraciones intestinales y cardiopatías que pueden llevar incluso a la muerte (3).

Durante el curso de la fase aguda, el diagnóstico puede realizarse principalmente mediante métodos parasitológicos, es decir a través del hallazgo del parásito en muestras de sangre por métodos directos como la gota gruesa, el extendido de sangre periférica, la observación del parásito a partir de una gota de sangre observada con objetivo de 40X entre lámina portaobjetos y laminilla cubreobjetos, métodos de concentración como la observación de la capa leucoplaquetaria de un microhematocrito o la observación del sedimento del método de Strout que tras un proceso de concentración de una muestra de sangre total también ofrece la posibilidad del hallazgo del hemoparásito. Sin embargo, aunque la observación del parásito es una realidad durante esta fase aguda, el éxito de un diagnóstico con el uso de estos métodos depende del número de veces que se realicen y obviamente del número de parásitos o parasitemia que esté cursando en el paciente al momento de la toma de la muestra de sangre, cuyo tiempo de duración está estimada entre 15 a 60 días, luego del cual el panorama del diagnóstico cambia en términos de métodos, ya que la parasitemia disminuye, se torna intermitente y entran entonces a desempeñar una parte muy importante los métodos indirectos de Inmunodiagnóstico, dado que la expresión de la respuesta inmune en el hospedero inicia con la producción de Inmunoglobulina M, la cual gradualmente es reemplazada por Inmunoglobulina G específica contra los antígenos del *T. cruzi*, encontrándose presente aproximadamente dos semanas pos infección y durante toda la vida (4,5).

El parásito *T. cruzi* se clasifica en seis unidades taxonómicas de tipificación (DTU) llamadas TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI. Los hallazgos a nivel molecular en Colombia han demostrado que TcI es más frecuente, sin embargo otras infecciones mixtas también se han hallado como TcI-TcII, TcI-TcIII y TcI-TcIV. Estos resultados tienen gran importancia, ya que esta variabilidad genética en el parásito, le confiere

algunas características especiales como el hecho que manifestaciones clínicas como la miocardiopatía en los enfermos de Chagas está más correlacionada con TcI que con TcII, a diferencia de los megasíndromes que están relacionados con TcII y TcIV y corresponde a una cepa del parásito con distribución geográfica principalmente en el cono sur (6).

El tema del diagnóstico de la enfermedad de Chagas es un tema muy complejo, constituye prácticamente un desafío, que depende del hospedero, su sintomatología, su respuesta inmune, el nexos epidemiológico, la variabilidad genética del parásito y por otro lado también de los mismos métodos que se empleen en el laboratorio para lograrlo tanto en la fase aguda como en la fase crónica.

Las técnicas serológicas de diagnóstico utilizan como antígenos extractos o lisados completos del parásito, antígenos recombinantes o péptidos sintéticos y a pesar de ser sensibles y específicas en sus validaciones primarias realizadas por quienes las ensamblan, no alcanzan a ser 100% sensibles y específicas, razón por la cual la OMS determinó que el diagnóstico serológico debía configurarse mediante dos técnicas de principio antigénico diferente y una tercera en caso de discordancia (7).

Desde el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud (INS) de Bogotá, en Colombia se recomienda actualmente un algoritmo que incluye una técnica inicial de ELISA (Ensayo Inmuno absorbente ligado a enzima) con extractos antigénicos totales lisados del parásito, seguida de una técnica complementaria de Inmunofluorescencia Indirecta o IFI, la cual en nuestro sistema de salud hasta hace muy poco se visibilizó en el Plan Obligatorio de Salud (POS), adicionalmente corresponde a una técnica con un alto grado de subjetividad que utiliza antígenos de membrana del parásito que le confiere una buena especificidad, pero con una gran demanda de equipos de laboratorio para su procesamiento y cuya calidad del resultado depende totalmente del grado de experticia del profesional. Asimismo, si hay un resultado discordante entre estas dos pruebas, la recomendación es el uso de una tercera de diferente principio, de mayor especificidad como el Inmunoblot que resulta ser de alto costo en nuestro país y de poca disponibilidad o la Hemaglutinación indirecta (HAI), que aunque cumple con tener un diferente principio antigénico ha resultado ser más sensible que específica, quedando finalmente diagnósticos inconclusos. Este escenario a nivel de diagnóstico, no hace otra cosa sino ofrecer a los pacientes grandes barreras en su acceso, ya que son quienes finalmente terminan recibiendo un diagnóstico inconcluso o inoportuno luego de evidenciarse que un resultado de una segunda prueba confirmatoria puede demorarse hasta 90 días después de un proceso de tercerización del servicio de laboratorio y por ende todo esto se traduce en un tratamiento tanto clínico como antiparasitario inadecuado en términos de oportunidad.

Durante los últimos años se ha propuesto desde el Programa Nacional de Enfermedad de Chagas del Ministerio de Salud y Protección Social la necesidad de atender de manera integral a las personas que se encuentran ya afectadas, hay muchas de ellas que sin saberlo inclusive se encuentran en fase crónica silente y son enteradas en una donación de sangre por los resultados de las pruebas de tamizaje que realizan los bancos de sangre, otras personas debido al desconocimiento y las acciones específicas de prevención, lamentablemente están recientemente infectadas, como los casos de transmisión oral documentados hace algunos meses en nuestro país. Tenemos un gran reto, es necesario entonces seguir trabajando en equipo para minimizar todas las brechas que hay en la atención integral de la Enfermedad de Chagas, desde el nivel local hasta el nivel nacional.

Actualmente hemos avanzado, sin embargo aún no es suficiente. En este momento, en el Plan Decenal de Salud Pública 2012-2021 liderado desde el Ministerio de Salud y Protección Social se encuentra el Plan de Interrupción de la transmisión de *T. cruzi* por vectores domiciliados que actualmente desarrollan algunos municipios endémicos, en el cual al año 2021 se deberán lograr metas como la certificación internacional en el 40% de los municipios endémicos y en el 60% restante, en proceso de certificación. Esta actividad tiene un componente muy importante de vigilancia por laboratorio en el cual el diagnóstico serológico de menores de 15 años es la base fundamental para lograr la meta. Asimismo, la enfermedad de Chagas se ha incluido en las rutas de atención priorizadas por el Ministerio de Salud y se ha diseñado un proyecto piloto para la atención integral de esta enfermedad parasitaria en cuatro municipios del país, en donde igualmente el componente de diagnóstico también tiene una parte primordial, ya que desde el Laboratorio Nacional de Referencia del INS se desarrolla un estudio de validación secundaria de técnicas de ELISA de diferentes principios antigénicos, con el fin de determinar la capacidad operativa de las principales técnicas que se comercializan en nuestro país bajo el registro del INVIMA según el decreto 3770 de 2004, conocer su desempeño en pacientes colombianos y poder confirmar el diagnóstico en un segundo nivel de atención mediante el uso de dos de estas técnicas de ELISA que demuestren unos altos índices de desempeño de sensibilidad y especificidad, siguiendo el lineamiento de la OMS.

Con esta última actividad se realizará una recomendación técnica a nivel nacional que reemplazará el algoritmo clásico de diagnóstico serológico al cual desde hace más de una década nos hemos ceñido y de esta forma simplificaremos el diagnóstico, estará disponible muy cerca al paciente y se superará una de las barreras más importantes que marca el inicio de la ruta de atención integral.

Referencias

1. WHO. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. Wkly Epidemiol Rec. 2015 6;90(6):33-43. 2.

2. Ríos JF, Arboleda M, Montoya A, Alarcón E, Parra Henao GJ. Probable brote de transmisión oral de enfermedad de Chagas en Turbo, Antioquia. 2011; 31(2).
3. Rassi A, Jr, Rassi A, Marcondes de Rezende J American trypanosomiasis (Chagas disease). Infect Dis Clin North Am. 2012; 26(2): 275–91.
4. Instituto Nacional de Salud (INS). Disponible en: <http://www.ins.gov.co/tramites-y-servicios/examenes-de-interés-en-salud-publica/Parasitologa/Lineamientos%20de%20Diagnostico%20de%20Chagas%20en%20fase%20Aguda%20en%20situación%20de%20Brotos.pdf>
5. Ministerio de Salud del gobierno de Argentina. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/medicoscomunitarios/images/stories/Equipos/problemas-priorizados-salud/sintesis-guia-chagas-23-09-10.pdf>
6. J. D. Ramírez, F. Guhl, L. M. Rendon, F. Rosas, J. A. Marin-Neto and C. A. Morillo (2010). Chagas cardiomyopathy manifestations and Trypanosoma cruzi genotypes circulating in chronic Chagasic patients. PLoS Neglected Tropical Diseases 4, e899. doi: 10.1371/journal.pntd.0000899.
7. Serie de Informes Técnicos No.905. Comité de expertos Ginebra. Organización Mundial de la Salud.

Situación actual de *Blastocystis*: diagnóstico y significancia clínica

Yesmit Karina Ríos Ramírez

Bacterióloga, Magíster en Biología. Cúcuta.

Blastocystis (anteriormente conocido como *Blastocystis hominis*) es un protista polimórfico anaerobio, que habita en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y muchos grupos de animales. Este parásito entérico cosmopolita, se identifica como el eucariota unicelular más común en muestras de heces humanas. A pesar de haber sido descubierto a principios del siglo XX, solamente hasta hace poco se han logrado avances significativos en la comprensión de su Biología, demostrando la existencia de varios genotipos en la naturaleza y la presencia de distintas formas parasitarias (avacuolar, granular, quística, multivacuolar, ameboide). Los factores de riesgo asociados a las infecciones por *Blastocystis* incluyen, inmunocompromiso, deficientes condiciones higiénico-sanitarias, viajes a países tropicales o en vías de desarrollo, contacto con animales o agua y alimentos contaminados.

La clasificación taxonómica del parásito actualmente está basada en el análisis del gen de la Subunidad pequeña del RNA ribosomal (SSU-rDNA); ubicándose en la clase *Blastocystea*, subfilo *Opalinata*, infrareino *Heterokonta* (*Stramenopiles*), subreino *Chromobiota*, reino *Chromista*. *Blastocystis* es el único de los *Stramenopiles* conocidos que causa infección en humanos. Deducir la identidad de *Blastocystis* a nivel de especies es uno de los retos por resolver, debido a la diversidad de hospederos y a la transmisión zoonótica inherente al parásito la cual ha sido bastante documentada. La presencia de varios subtipos (ST) circulando en la naturaleza (17 reportados en literatura y 33 de acuerdo a secuencias totales y parciales del GenBank), ha hecho que por consenso se haya propuesto usar en la nomenclatura la designación de *Blastocystis spp* acompañado del subtipo

identificado. Los humanos han sido considerados hospederos de distintos subtipos basados en esta clasificación que agrupa a la mayoría de ST de mamíferos, aves e insectos.

Aun cuando en heces humanas se han detectado subtipos del 1 al 9, el 95% de las infecciones se estima son producidas por los primeros cuatro subtipos del parásito (ST1-ST4); el resto (ST5-ST8) son considerados de origen zoonótico y ST9 parece ser exclusivo de humanos.

El papel de *Blastocystis* como patógeno permanece en discusión, aunque varios autores lo definen como tal. Puede ser aislado de individuos con sintomatología gastrointestinal (diarrea, dolor abdominal, vómito) y extraintestinal (urticaria crónica y artritis infecciosa); sin embargo, la presentación de individuos asintomáticos ha llevado a pensar que, en su diversidad genética, amplitud de hospederos y algunos determinantes patogénicos como el estado inmunológico del individuo infectados y la interacción con otros parásitos, se encuentra la explicación a este fenómeno.

Existen varios métodos disponibles para la detección de *Blastocystis* entre los que se cuentan la microscopía como estándar de oro. Para la observación directa, se han usado montajes húmedos con Lugol y tinciones permanentes como Giemsa, Field y Tricrómica. A pesar de ser la principal herramienta del diagnóstico primario a nivel mundial, la microscopía ha mostrado una limitada utilidad en la identificación rutinaria de *Blastocystis* debido a la sensibilidad variable del método, dependiente de la experiencia del laboratorista. Entre los aspectos que afectan la sensibilidad del examen microscópico se encuentra la naturaleza polimórfica del parásito, la variación en tamaño (entre 5-200 μm) e incluso a confusión con otros organismos como *Dientamoeba fragilis*.

El cultivo por su parte, incrementa la sensibilidad en la detección del parásito en comparación con la microscopía. *Blastocystis* puede ser mantenido en medio Jones, Boeck y Drbohlav y se ha observado crecimiento en otros medios como MEM y DMEM a las 24-72 horas de cultivo. Este método parece favorecer un subtipo sobre el otro por lo que el número de infecciones mixtas podría desestimarse.

Por otro lado, es importante resaltar que las infecciones con *Blastocystis* llevan a generar altos títulos de anticuerpos tipo IgG en individuos sintomáticos, siendo más fuerte la reacción encontrada en individuos con infecciones crónicas. Sin embargo, el uso de técnicas como ELISA indirecto o inmunofluorescencia podrían tener especial utilidad en estudios epidemiológicos; pero su aplicación en clínica, es aun limitada debido a que la respuesta inmune a este parásito sigue siendo motivo de estudio.

El uso de herramientas moleculares basadas en PCR, está más orientado a la caracterización de los aislados por medio de la subtipificación de *Blastocystis* que

al uso rutinario del diagnóstico de esta parasitosis; sin embargo, son el conjunto de técnicas que ofrecen la sensibilidad más alta de los métodos disponibles en la actualidad.

Todo esto ha llevado a que parte de las infecciones con este parásito sigan sin reportarse o sean un diagnóstico subestimado en la clínica, contribuyendo a la propagación de *Blastocystis* por falta de tratamiento y favoreciendo a que su frecuencia sea elevada especialmente en países subdesarrollados en donde se han reportado prevalencias de hasta el 60% en América Latina y cerca del 100% en poblaciones africanas.