



ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:1-60

Septiembre - Diciembre 2012 / September - December 2012

Comité Editorial
Editorial Board

EDITORIAL /EDITORIAL

Comité Científico
Scientific
Committee

3-6.- RENAL REPLACEMENT TREATMENT IN CARDIAC FAILURE

7-10.- TERAPIAS DE REEMPLAZO RENAL EN LA INSUFICIENCIA CARDÍACA

Carlos G. Musso MD. PhD., Hector Rivera MD., Manuel Vilas MD.

Nephrology Division. Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

ORIGINALS / ORIGINALES

11-16.- EDAD Y PERFIL CLÍNICO DE LOS PACIENTES HOSPITALIZADOS POR MONONUCLEOSIS INFECCIOSA.

Santiago González Quijada, Marta Cuesta, Ana Riego Valledor, Ana Gil, Cristina Pérez Tárrego

Sección de Medicina Interna del Hospital Universitario de Burgos Complejo Asistencial Universitario de Burgos (CAUB). Burgos. España

Derechos de autor
/ Copyright

Contacto/Contact:



17-21.- PES PLANUS (FLATFOOT) IN MALE AND FEMALE ADULTS OF BAYELSA- NIGERIA

Dare NW, Onyije FM, Osoma S.

Department of Human Anatomy, Faculty of Basic Medical Sciences, College of Health Sciences, Niger Delta University, Wilberforce Island. Nigeria

22-26.- VALORES COMPARADOS DE EXCRECIÓN FRACCIONAL DE MAGNESIO Y FÓSFORO PERITONEAL Y URINARIO ENTRE PACIENTES EN DIÁLISIS PERITONEAL CON DIURESIS RESIDUAL, INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (ESTADIO III) Y VOLUNTARIOS SANOS

27-31.- COMPARED VALUES OF URINARY AND PERITONEAL FRACTIONAL EXCRETION OF MAGNESIUM AND PHOSPHORUS AMONG PATIENTS ON PERITONEAL DIALYSIS WITH RESIDUAL DIURESIS, CHRONIC RENAL FAILURE (STAGE III) AND HEALTHY VOLUNTEERS

Musso CG, Rodriguez Macias E, Medina A, Heredia A, Juarez R, Rivera H, de Miguel R.

Servicios de Nefrología y Laboratorio Central. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina.

32-39.- DEVELOPMENT OF A MULTIPLE-LOCUS VARIABLE NUMBER OF TANDEM REPEAT ANALYSIS (MLVA) FOR *HELICOBACTER PYLORI* AND ITS APPLICATION TO *HELICOBACTER PYLORI* ISOLATES FROM ROSTOV REGION, RUSSIA

Vladimir M. Sorokin, Ruslan V. Pisanov, Elena A. Bereznyak, Lubov A. Prozorova.

Rostov-on-Don Institute for Plague Research. Rostov-on-Don. Russia

CASE REPORTS / CASOS CLÍNICOS

40-44.- AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN GESTANTE: IMAGEN EN CELLAVISION DM8

Beatriz Cuevas-Ruiz, Pilar de Vicente

Servicio de Hematología-Hemoterapia. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

INTERNET REVIEWS / REVISIONES EN INTERNET

45-53.- CITOMETRÍA DE FLUJO: FUNDAMENTO, INSTRUMENTACIÓN Y APLICACIONES EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Gabriel Alberto March Rosselló, José María Eiros Bouza

Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. España.

LETTERS TO THE EDITOR / CARTAS AL EDITOR

**54-60.- CARACTERIZACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS DETECTADAS EN EL
SERVICIO DE MEDICINA DEL HOSPITAL COMANDANTE MANUEL FAJARDO**

Iván Díaz Robbio, Ivette Díaz Mato, José Carlos Hernández Aragonés.

**Hospital Clínico-Quirúrgico Joaquín Albarrán, Facultad de Medicina Dr. Salvador Allende, Hospital Comandante
Manuel Fajardo. La Habana. Cuba**



ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del
volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific
Committee

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:3-6.

Editorial:

RENAL REPLACEMENT TREATMENT IN CARDIAC FAILURE

**Carlos G. Musso MD. PhD., Hector Rivera MD.,
Manuel Vilas MD.**

**Nephrology Division. Hospital Italiano de Buenos Aires.
Buenos Aires. Argentina**

[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)

Version española

When the conservative measures for the treatment of renal failure secondary to heart failure (pre-renal cardiogenic renal failure) are not enough to avoid alterations in the internal milieu and/or water and salt overload, it is necessary to use a renal replacement therapy (artificial kidney), which could be extracorporeal (hemodialysis - hemofiltration) or intracorporeal (peritoneal dialysis)¹⁻².

The need to use renal replacement in patients who suffer from heart failure can arise when some of the following clinical situations take place:

A) Heart failure decompensation, with clear water and salt overload and low systolic volume, which brings about resistance to diuretics therapy when these cannot be filtrated and thus they do not reach their action site (tubular lumen). The removal of such water and salt overload by means of dialytic ultrafiltration (extracorporeal or peritoneal) or by hemofiltration associated to a negative balance of water and salt, leads to an improvement in heart contractility (Starling law), its systolic volume, and therefore in renal

perfusion and diuretics renal response³⁻⁴.

Frequently, it occurs that after a few sessions of ultrafiltration, they stop being necessary due to that the recovered renal response to the diuretics is enough to obtain the required negative balance of water and salt. Nevertheless, it is worth mentioning that there are several additional advantages to the removal of fluid by ultrafiltration respect to that removed by diuresis: on one hand, while the ultrafiltrated fluid is isotonic, the urinated fluid is hypotonic, so the sodium removal obtained by ultrafiltration is higher than that obtained by diuresis⁵⁻⁶.

On the other hand, the removal by ultrafiltration (isotonic) results in a more sustained decrease of intravascular hydrostatic pressure than that induced by diuresis, which produces a much lower activation of the renin-angiotensin-aldosterone axis than that obtained by diuretics⁴⁻⁶.

B) Heart decompensated disease with a marked systolic volume reduction, severe pre-renal renal failure which leads to oliguria, water and salt overload, uremia, hyponatremia, hyperkalemia and/or metabolic acidosis. The treatment for these complications is the combination of dialysis and ultrafiltration (using haemodialysis or peritoneal dialysis) or the indication of haemodiafiltration, depending if the patient is haemodynamically stable or not, respectively⁶⁻⁷.

For this reason, in cases of acute renal failure secondary to cardiogenic shock it is preferred to use continuous renal replacement therapies to control its volume overload and correct its electrolytic and acid-base alterations.

C) Heart failure associated to advanced chronic renal failure (stage IV or V), is a clinical situation where failure in both organs combined causes each of them to decompensate more easily. In fact, a patient suffering from chronic renal failure and who also suffers heart disease can be necessary to enter into a chronic dialysis program (hemodialysis or peritoneal dialysis) earlier than usual (glomerular filtration ≤ 20 and ≥ 10 ml/min/1.73 m²) since there is a bad handling of water and salt balance (frequent episodes of acute lung congestion) despite being adequately treated (hyposodic diet, diuretics, spironolactone, beta blockers, convertase inhibitors and/or angiotensin II receptor blockers).

If the peritoneal dialysis treatment is indicated, it can be enough to do a more reduced number of dialytic exchanges (cycles) respect to those patients who start dialysis due to end-stage renal disease: this type of peritoneal dialysis, which progressively increases the amount of exchanges is called incremental dialysis⁶⁻¹⁰.

CONCLUSION Renal replacement therapies help to treat decompensated heart failure associated or not to renal insufficiency.

REFERENCES

- 1.- Joannidis M. Indications for renal replacement therapy in the critically ill. In Ronco C, Bellomo R, Kellum J. (Eds.) *Critical Care Nephrology*. Philadelphia. Saunders. 2009: 1128-1130.
- 2.- Belziti C. Comorbilidades en la insuficiencia cardíaca II: insuficiencia renal. En Belziti C, Vulcano N (Eds.). *Insuficiencia cardíaca. Respuestas sobre casos clínicos*. Buenos Aires. Intermédica. 2010: 59-66.
- 3.- Musso CG, Torres Torres G. Artificial kidney physiology. *Electron J Biomed*. 2007; 3: 8-12.
- 4.- Bart B, Boyle A, Bank A, Anand I, Olivari M, Kraemer M, Mackedanz S, Sobotka P, Schollmeyer M, Goldsmith S. Ultrafiltration Versus Usual Care for Hospitalized Patients With Heart Failure The Relief for Acutely Fluid-Overloaded Patients With Decompensated Congestive Heart Failure (RAPID-CHF) Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(11):2043-2046.
- 5) Costanzo M, Guglin M, Saltzberg M, Jessup M, Bart B, Teerlink J, Jaski B, Fang J, Feller E, Haas G, Anderson A, Schollmeyer M, Sobotka M. Ultrafiltration Versus Intravenous Diuretics for Patients Hospitalized for Acute Decompensated Heart Failure (UNLOAD) Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(6):675-683.
- 6) Dormans T, Huige R, Gerlag P. Chronic intermittent haemofiltration and haemodialysis in end stage chronic heart failure with oedema refractory to high dose furosemide. *Heart*. 1996; 75: 349-351.
- 7) Bart B, Goldsmith S, Lee K, Redfield M, Felker G, O'Connor C, Chen H, Rouleau J, Givertz M, Semigran M, Mann D, Deswal A, Bull D, Lewinter M, Braunwald E. Cardiorenal rescue study in acute decompensated heart failure: rationale and design of CARRESS-HF, for the Heart Failure Clinical Research Network. *J Card Fail*. 2012;18(3):176-182.
- 8) Kirishnan A, Oreopoulos D. Peritoneal dialysis in congestive heart failure. *Advances in Peritoneal Dialysis*. 2007;23:82-89.
- 9) Bertoli S, Ciurlino D, Maccario M, Martino S, Bigatti G, Traversi L, Procaccio M, Buzzi L. Home peritoneal ultrafiltration in patients with severe congestive heart failure without end-stage renal disease.

Adv Perit Dial. 2005;21:123-27.

10) Burkart J, Bargman J. Adequacy of peritoneal dialysis, including fluid balance. In Gokal R, Khanna R, Krediet R, Nolph K. (Eds.). Textbook of peritoneal dialysis. New York. Springer. 2009: 469-503.

CORRESPONDENCE:

Carlos G. Musso

Nephrology Division.

Hospital Italiano de Buenos Aires.

Buenos Aires. Argentina

Mail:[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)



ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del
volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific
Committee

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:7-10.

Editorial:

TERAPIAS DE REEMPLAZO RENAL EN LA INSUFICIENCIA CARDÍACA

**Carlos G. Musso MD. PhD., Hector Rivera MD.,
Manuel Vilas MD.**

**Servicio de Nefrología. Hospital Italiano de Buenos Aires.
Buenos Aires. Argentina**

[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)

English Version

Cuando el tratamiento convencional de la insuficiencia cardíaca descompensada no llega a ser suficiente como para evitar que se susciten complicaciones tales como la aparición de sobrecarga hidrosalina, uremia, y/o alteraciones del medio interno, se requiere entonces para su resolución el uso de una terapia de reemplazo renal (riñón artificial)¹⁻².

Dichas situaciones clínicas pueden ser agrupadas básicamente en tres categorías:

a) *Insuficiencia cardíaca descompensada, sin insuficiencia renal severa, pero con marcada sobrecarga hidrosalina y falla anterógrada, la cual acarrea resistencia a la terapia con diuréticos al no poder ser éstos filtrados y alcanzar así su sitio de acción (luz tubular). La remoción de dicha sobrecarga hidrosalina mediante ultrafiltración dialítica (extracorpórea o peritoneal) o hemofiltración asociada a balance hidrosalino negativo, conduce a una mejoría de la contractilidad cardíaca (ley de Starling) y por consiguiente en la*

perfusión renal y en su respuesta a la acción de los diuréticos³⁻⁴.

Frecuentemente, resulta que tras unas pocas sesiones de ultrafiltración, éstas dejan de ser necesarias debido a que la respuesta renal a los diuréticos, ahora recuperada, resulta ya suficiente para conseguir el balance hidrosalino negativo requerido. No obstante, cabe señalar, que existen ventajas adicionales en la remoción de fluido por ultrafiltración respecto de aquel removido por diuresis: por un lado, mientras que el fluido ultrafiltrado es isotónico, el fluido orinado es hipotónico, por lo cual la remoción de sodio que logra la ultrafiltración es mayor que aquella obtenida por diuresis⁵⁻⁶.

Otra ventaja de la ultrafiltración respecto de la diuresis inducida por diuréticos, es su menor riesgo de inducir hipokalemia. Asimismo, el uso temprano de la ultrafiltración ha demostrado mejoría clínica de los pacientes y reducción en sus días de internación. Por otro lado, la remoción a través de ultrafiltración (isotónica) resulta en una disminución más sostenida de la presión hidrostática intravascular que aquella inducida por diuresis, con lo cual produce una activación mucho menor del eje renina-angiotensina-aldosterona respecto de aquella obtenida por diuréticos⁴⁻⁶.

b) *Insuficiencia cardíaca descompensada con marcada falla anterógrada, severa insuficiencia renal pre-renal* y en consecuencia oliguria, sobrecarga hidrosalina, uremia, hiponatremia, hiperkalemia, y/o acidosis metabólica. El tratamiento de estas complicaciones se realiza mediante el uso combinado de difusión y ultrafiltración, mediante el uso de la diálisis (hemodiálisis o diálisis peritoneal) o la hemodiafiltración, según se encuentre en paciente estable hemodinámicamente o no⁶⁻⁷.

La implementación de una terapia de reemplazo renal en un paciente portador de insuficiencia cardíaca sin insuficiencia renal severa (sobrecarga hidrosalina) o con ella (uremia y alteraciones del medio interno) puede ser tanto transitoria, como definitiva. En el caso específico de tener que iniciarse a un paciente con insuficiencia cardíaca severa y sin severo compromiso funcional renal, una terapia crónica de sustitución renal, de no haber contraindicación para ello, se recomienda en general la modalidad peritoneal ya que se trata de un método ambulatorio, que provee ultrafiltración constante sin generar inestabilidad hemodinámica, que conserva la función renal residual (diuresis) y su sensibilidad al accionar de los diuréticos⁸⁻¹⁰.

c) *Insuficiencia cardíaca asociada a insuficiencia renal crónica avanzada (estadio IV o V)*, es una situación clínica donde la insuficiencia de ambos órganos combinadas propicia que cada uno de ellos se descompense con más facilidad. De hecho, el paciente insuficiente renal crónico portador de cardiopatía puede requerir ingresar a un programa de diálisis crónica (hemodiálisis o diálisis peritoneal) antes de lo habitual (filtrado glomerular ≤ 20 y ≥ 10 ml/min/1.73 m²) a raíz de presentar mal manejo del volumen hidrosalina (reiterados episodios de edema agudo de pulmón) a pesar de estar adecuadamente tratado (dieta hiposódica, diuréticos, espironolactona, beta

bloqueantes, inhibidores de la convertasa y/o bloqueantes de los receptores de angiotensina II). En este caso, de realizarse su tratamiento mediante el ingreso del paciente a un programa de diálisis peritoneal crónica, puede ser suficiente la utilización de un número reducido cambios dialíticos: a esta variedad de diálisis peritoneal, en la cual se aumenta progresivamente el número de ciclos a medida que el paciente va perdiendo su función renal residual, se la designa *diálisis incremental*⁶⁻¹⁰.

CONCLUSIÓN:

Las terapias de reemplazo de la función renal permiten tratar las complicaciones inherentes a la insuficiencia cardíaca descompensada, con o sin disfunción renal asociada, y que han sido refractarias al tratamiento clínico convencional.

REFERENCIAS

- 1.- Joannidis M. Indications for renal replacement therapy in the critically ill. In Ronco C, Bellomo R, Kellum J. (Eds.) Critical Care Nephrology. Philadelphia. Saunders. 2009: 1128-1130.
- 2.- Belziti C. Comorbilidades en la insuficiencia cardíaca II: insuficiencia renal. En Belziti C, Vulcano N (Eds.). Insuficiencia cardíaca. Respuestas sobre casos clínicos. Buenos Aires. Intermédica. 2010: 59-66.
- 3.- Musso CG, Torres Torres G. Artificial kidney physiology. Electron J Biomed. 2007; 3: 8-12.
- 4.- Bart B, Boyle A, Bank A, Anand I, Olivari M, Kraemer M, Mackedanz S, Sobotka P, Schollmeyer M, Goldsmith S. Ultrafiltration Versus Usual Care for Hospitalized Patients With Heart Failure The Relief for Acutely Fluid-Overloaded Patients With Decompensated Congestive Heart Failure (RAPID-CHF) Trial. J Am Coll Cardiol. 2005;46(11):2043-2046.
- 5) Costanzo M, Guglin M, Saltzberg M, Jessup M, Bart B, Teerlink J, Jaski B, Fang J, Feller E, Haas G, Anderson A, Schollmeyer M, Sobotka M. Ultrafiltration Versus Intravenous Diuretics for Patients Hospitalized for Acute Decompensated Heart Failure (UNLOAD) Trial. J Am Coll Cardiol. 2007;49(6):675-683.
- 6) Dormans T, Huige R, Gerlag P. Chronic intermittent haemofiltration and haemodialysis in end stage chronic heart failure with oedema refractory to high dose furosemide. Heart. 1996; 75: 349-

351.

7) Bart B, Goldsmith S, Lee K, Redfield M, Felker G, O'Connor C, Chen H, Rouleau J, Givertz M, Semigran M, Mann D, Deswal A, Bull D, Lewinter M, Braunwald E. Cardiorenal rescue study in acute decompensated heart failure: rationale and design of CARRESS-HF, for the Heart Failure Clinical Research Network. J Card Fail. 2012;18(3):176-182.

8) Kirishnan A, Oreopoulos D. Peritoneal dialysis in congestive heart failure. Advances in Peritoneal Dialysis. 2007;23:82-89.

9) Bertoli S, Ciurlino D, Maccario M, Martino S, Bigatti G, Traversi L, Procaccio M, Buzzi L. Home peritoneal ultrafiltration in patients with severe congestive heart failure without end-stage renal disease. Adv Perit Dial. 2005;21:123-27.

10) Burkart J, Bargman J. Adequacy of peritoneal dialysis, including fluid balance. In Gokal R, Khanna R, Krediet R, Nolph K. (Eds.). Textbook of peritoneal dialysis. New York. Springer. 2009: 469-503.

CORRESPONDENCE:

Carlos G. Musso

Nephrology Division.

Hospital Italiano de Buenos Aires.

Buenos Aires. Argentina

Mail:[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)



ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del
volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific
Committee

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:11-16

Editorial:

EDAD Y PERFIL CLÍNICO DE LOS PACIENTES HOSPITALIZADOS POR MONONUCLEOSIS INFECCIOSA.

**Santiago González Quijada, Marta Cuesta, Ana Riego Valledor,
Ana Gil, Cristina Pérez Tárrego**

**Sección de Medicina Interna del Hospital Universitario de Burgos
Complejo Asistencial Universitario de Burgos (CAUB).
Burgos. España**

[sgq @ hubu.es](mailto:sgq@hubu.es)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:11-16.

Comentario del revisor Prof. José María Eirós Bouza MD. PhD. Catedrático de Microbiología de la Universidad de Valladolid. Jefe de Sección del Hospital Río Hortega. Valladolid. España.

Comentario del revisor Prof. Valentín del Villar Sordo MD. PhD. Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital de Soria. Soria. España

RESUMEN:

Introducción: No esta claro si la edad puede condicionar la expresividad clínica de la Mononucleosis Infecciosa (MI), y por tanto constituirse en un factor de riesgo para la hospitalización. El objetivo del estudio fue comprobar si el perfil clínico de los pacientes hospitalizados por esta causa varía sustancialmente con la edad.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo basado en la recopilación de datos secundarios obtenidos de 217 casos de MI ingresados en un hospital de referencia entre 1995-2008. Se realiza un análisis comparativo del perfil clínico según la edad.

Resultados: La distribución por edades fue: < 10 años (40 casos; 18.4%), 10-24 (154; 70.9%), y > 24 (23; 10.5%). Un perfil clínico típico (faringoamigdalitis, fiebre y adenopatías), fue más frecuente en los niños y en los adolescentes que en los adultos: 77%, 76%, y 34,6%; respectivamente ($p < 0.001$). La presencia de linfocitosis relativa no fue superior al 60 % en ninguno de los tres grupos. Se encontró anemia en el 49% de los niños frente al 11,7% en adolescentes; $p < 0.001$. La AST (> 10 veces los valores normales), y la bilirrubina total en sangre, estuvieron elevadas con mayor frecuencia en adultos que en adolescentes: 13,6% vs. 4,9%; $p < 0.05$, y 41,1 % vs. 24,6%; $p < 0.01$; respectivamente.

Conclusiones: Los niños y adultos hospitalizados por MI presentan un perfil clínico o analítico atípico con mayor frecuencia que los adolescentes en la misma situación. Este dato, junto con la severidad de la enfermedad, ha podido propiciar la hospitalización.

PALABRAS CLAVE: Mononucleosis Infecciosa, edad, hospitalización.

SUMMARY: AGE AND CLINICAL PROFILE OF HOSPITALIZED PATIENTS WITH INFECTIOUS MONONUCLEOSIS.

Background: It is unclear whether age may influence the clinical expression of Infectious mononucleosis (IM), and therefore constitute a risk factor for hospitalization. The aim of the study was to verify the clinical profile of patients hospitalized for this cause varies substantially with age.

Patients and methods: This is a retrospective case-control study, based on the collection of secondary data from 217 cases of IM admitted to a referral hospital between 1995-2008. We performed a comparative analysis of clinical profile by age.

Results: The frequency of patients by age groups were <10 years (40 cases, 18.4%), 10-24 (154, 70.9%), and > 24 (23, 10.5%). The age range was from 0.2 to 78 years with a mean of 5 ± 2 years, 17 ± 4 and 33 ± 11 years, respectively. A typical or usual clinical profile (pharyngitis, fever and lymphadenopathy), was more common in children and adolescents than in adults: 77%, 76%, and 34.6% respectively ($p < 0.001$). The presence of relative lymphocytosis was not superior to 60% in any of the three groups. Anemia was found in 49% of children compared to 11% of adolescents; $P < 0.001$. The AST (> 10 times normal), and total bilirubin in the blood were elevated more frequently in adults than in adolescents: 13.6% vs. 4.9%, $P < 0.05$, and 41, 1% vs. 24.6%, $P < 0.01$, respectively.

Conclusions: Children and adults hospitalized with MI have an atypical clinical or analytical profile more often than adolescents in the same situation. This data, along with the severity of the disease, has been promoting the hospitalization.

KEYWORDS: Infectious mononucleosis, age, hospitalized patients.

INTRODUCCIÓN

El virus de Epstein-Barr (VEB) produce la Mononucleosis Infecciosa (MI). Se trata de una infección benigna de la comunidad que se manifiesta principalmente en adolescentes y adultos jóvenes¹⁻⁵. Cursa habitualmente con fiebre, adenopatías laterocervicales, faringoamigdalitis y linfocitosis en sangre periférica¹⁻³. Tiene una distribución mundial, con una seroprevalencia del 90-95% en los adultos de países industrializados, y un pico de incidencia entre los 14 y los 24 años de edad (2-4). La seroconversión se adelanta a edades más tempranas (3 a 6 años) en los grupos poblacionales con nivel socioeconómico más bajo. En un análisis de 1818 casos recogidos en Rochester (Minnesota, USA) entre 1950 y 1969, se hospitalizaron el 10%¹, y en la última década, según datos del Reino Unido, se ha duplicado la incidencia de hospitalización por esta causa en sujetos entre 10 y 24 años⁵. Se sabe que los pacientes con formas atípicas de la infección pasan más tiempo hospitalizados, y son sometidos a mayor número de pruebas diagnósticas⁶⁻⁷. Sin embargo, no está claro hasta qué punto la edad condiciona la expresividad clínica de la infección y la frecuencia de hospitalización. El objetivo del estudio fue comprobar si el perfil clínico de los pacientes hospitalizados por esta causa varía sustancialmente con la edad.

PACIENTES Y MÉTODOS:

Estudio de casos y controles retrospectivo, basado en la recopilación de datos secundarios de 217 casos de MI que ingresaron en un hospital de referencia (área sanitaria de 220.000 habitantes) entre 1995-2008.

Se realiza un análisis comparativo por edades (menores de 10 años, entre 10-24 años (grupo control), y mayores de 24 años), de las características clínicas (perfil clínico) y analíticas asociadas al proceso. Los datos se han obtenido de la Historia Clínica y los informes de Alta Hospitalaria.

Se incluyeron aquellos pacientes con clínica compatible y serología positiva para la enfermedad (anticuerpos

heterófilos, o anticuerpos IgM frente a cápside viral, por ELISA)⁸. Se definió faringitis o amigdalitis por la presencia de odinofagia y uno de los siguientes: eritema o exudado faríngeo, hipertrofia amigdalar o placas amigdalares¹. MI clásica o habitual fue aquella con fiebre, faringoamigdalitis y adenopatías laterocervicales^{1,3}.

Un internista experimentado revisó los datos recogidos con el fin de catalogar con mayor precisión el perfil clínico asociado a cada caso. Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS 15 (SPSS Inc.). Los datos cualitativos se expresan en forma de frecuencias absolutas y/o porcentajes, y los cuantitativos mediante media y rango. Para comparar las variables cualitativas se empleó el test exacto de Fischer, y para comparar variables numéricas se empleó el test U de Mann-Whitney.

RESULTADOS.

La distribución de frecuencias según los grupos de edad establecidos fueron; menores de 10 años (40 casos; 18.4%), de 10 a 24 años (154; 70.9%), y mayores de 24 (23, 10.5%). El rango de edad fue de 0,2-78 años, con una media de: 5 ± 2 años, 17 ± 4 y 33 ± 11 años, respectivamente.

TABLA 1: Datos epidemiológicos, clínicos y analíticos principales de pacientes hospitalizados por Mononucleosis Infecciosa.

	< 10 años (n = 40)	10-24 años (n = 154)	> 24 años (n = 23)
Edad (años)	5 (2 m-9)	17 (11-24)	33 (25-78)
Varones (%)	56	60	63
Días de evolución de síntomas (media y rango)	8 (1-60)	6,4 (1-21)	15 (1-70) ^a
Días de ingreso hospitalario (media y rango)	7 (1-27)	5,4 (1-12)	8 (2-19)
Antibióterapia en relación con el proceso (%)	16 (40,1)	92 (60,2)	16 (60,8)
Corticoterapia en relación con el proceso (%)	4 (10,3) ^a	71 (46,1)	5 (21,7) ^a
Presentación clínica clásica o típica	31 (77,5)	128 (76,3)	8(34,6) ^a
Adenopatías laterocervicales	35 (87,5)	137 (88,9)	16 (69,5)
Faringitis o amigdalitis	35 (87,3)	134 (87,2)	13 (56,5) ^a
Fiebre (>37°C)	36 (90,3)	130 (84,4)	20 (86,9)
Exantema	11 (27,5) ^a	14 (9,4)	1 (4,3)
Esplenomegalia	20 (50)	53 (34,4)	9 (39,1)
Hepatomegalia	10 (25)	35 (22,7)	9 (39,1)
Linfocitos > 50%	23 (57,5)	91 (59,3)	13 (59,3)
Hemoglobina < 12 g/dl	17 (44,4) ^a	18 (11,7)	2 (8,7)
AST > 370 U.L/l	2 (5,4)	15 (4,9)	3 (13,6) ^b
ALT > 410 U.L/l	5 (13,8)	18 (11,7)	10 (18,1)
Bilirrubina total > 1 mg/dl	4 (10,5)	37 (24,6)	9 (41,1) ^a
VSG > 60 mm/hora	8 (20,3) ^a	3 (2,0)	0 (0,0)

a: $p < 0,01$ con respecto a los adolescentes; b: $p < 0,05$ con respecto a los adolescentes;

VSG: velocidad de sedimentación globular;

Según test exacto de Fischer o test de Mann-Whitney: significativo para $p < 0,05$.

En la Tabla 1 se recogen las variables a estudio. Destaca el mayor tiempo de evolución de los síntomas, previo a la hospitalización, en los adultos. Una presentación clínica típica o habitual (faringoamigdalitis, fiebre y adenopatías),

fue más frecuente en los niños y en los adolescentes que en los adultos: 77%, 76%, y 34,6%; respectivamente ($p < 0.01$).

En cuanto a las alteraciones analíticas, la anemia fue más frecuente en los niños que en los adolescentes (49% vs 11%; $p < 0.01$). Las transaminasas (ALT), y la bilirrubina en sangre, estuvieron elevadas con mayor frecuencia en adultos que en adolescentes; $p < 0.05$ y $p < 0.01$; respectivamente.

El antibiótico utilizado con mayor frecuencia fue la amoxicilina (70% de aquellos que recibieron antibióticos), sin diferencias significativas en los tres grupos (75%, 70% y 69%; respectivamente). Ningún paciente falleció como consecuencia de la enfermedad.

Un niño precisó intubación por obstrucción severa de vía aérea, uno padeció miocarditis, uno monoartritis de rodilla, uno poliartritis simétrica de grandes articulaciones y dos convulsiones febriles. Un adolescente padeció neuritis óptica, uno Guillain Barré y otro anemia hemolítica severa. Un adulto padeció orquitis bilateral.

DISCUSIÓN:

El número de casos de MI hospitalizados en nuestro área sanitaria a lo largo de 14 años, se encuentra dentro del rango de incidencia descrito para la enfermedad (aproximadamente 45/100.000 habitantes por año, con una frecuencia de hospitalización de entre el 10-20%), en el contexto de poblaciones desarrolladas¹⁻⁶.

Sin embargo, la distribución de frecuencias por edades no se ajusta a la encontrada en la población. De hecho, menos del 10% de los niños desarrollan síntomas^{6,7}, y en nuestra muestra este subgrupo de pacientes supone el 18%. Algo similar ocurre con los adultos, que suponen menos del 3% de los casos ambulatorios, y en nuestra muestra son el 10%². Todo ello indica que los pacientes que padecen MI en una edad no habitual de contraerla, tienden a ser hospitalizados con mayor frecuencia que los adolescentes.

La severidad del proceso fue una causa de hospitalización, independientemente de la edad, y se observa por el uso de corticoides. Este hecho se deduce del alto porcentaje que recibió este tipo de medicación, muy superior al documentado en series basadas en la comunidad ($< 4\%$)^{1,4}.

La incertidumbre diagnóstica puede haber sido otro motivo de hospitalización, tanto en niños como en adultos. En este último subgrupo, las variaciones en el perfil clínico (menos frecuencia de faringitis), y analítico (perfil hepático alterado con mayor frecuencia), así lo indican. Estos hallazgos se añaden a los ya conocidos en cuanto a que los adultos con clínica atípica permanecen más tiempo hospitalizados y son sometidos a mayor número de pruebas diagnósticas^{2,5}.

Aunque se ha postulado una mayor frecuencia de clínica atípica en los niños^{6,7}, este dato no se comprueba en nuestra muestra. El perfil clínico no varía esencialmente del observado en el grupo de adolescentes, pero sí lo hace el perfil analítico y el espectro de manifestaciones clínicas, que es más amplio. La gran frecuencia de anemia que encontramos en este subgrupo de pacientes (casi el 50%), junto con el aumento de la VSG, hacen pensar en una mayor severidad del proceso. También se observaron manifestaciones clínicas exclusivas, como convulsiones, artritis y miocarditis, que aunque no fueron frecuentes si pudieron añadir un elemento de severidad e incertidumbre diagnóstica.

En una muestra ambulatoria de 156 pacientes con anticuerpos heterófilos positivos, una linfocitosis relativa igual o mayor del 50% fue vista en dos tercios de los casos⁸. En nuestra muestra fue algo menor (no superó el 59%), lo que pudo añadir un elemento de incertidumbre al diagnóstico y haber influido en la decisión de hospitalizar.

Las enzimas hepáticas, y con menor frecuencia la bilirrubina, se elevan en la mayoría de los pacientes, aunque su aumento suele ser de carácter benigno y autolimitado⁹. Finkel et al tras estudiar 235 casos con MI aconsejan descartar otras enfermedades cuando las elevaciones de las enzimas hepáticas superan 10 veces el límite superior de lo normal⁹. Su inusual elevación (mayor de esta cifra) en una proporción significativa de los adultos de nuestra serie, pudo ser un factor decisivo de ingreso hospitalario.

CONCLUSIÓN:

Observamos que la proporción de niños y adultos ingresados por MI es superior a la que correspondería por incidencia poblacional de la enfermedad. La mayor frecuencia de perfiles clínicos y analíticos atípicos o inusuales que mostraban estos pacientes, pudo añadir incertidumbre diagnóstica a la severidad del proceso y propiciar la hospitalización.

REFERENCIAS

- 1.- Henke CE, Kurland LT, Elveback LR. Infectious mononucleosis in Rochester, Minnesota, 1950 through 1969. *Am J Epidemiol* 1973; 98:483-490.
2. Rea TD, Russo JE, Katon W, Ashley RL. Prospective study of the natural history of infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus. *J Am Board Fam Pract* 2001; 14:234-239.
- 2.- Axelrod P; Finestone AJ. Infectious mononucleosis in older adults. *Am Fam Physician* 1990; 42:1599-606.
- 3.- Morris MC, Edmunds WJ. The changing epidemiology of infectious mononucleosis?. *J Infect* 2002; 45:107-113.
- 4.- Grotto I, Mimouni D, Huerta M, Mimouni M, Cohen D, Robin G, et al. Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults. *Epidemiol Infect* 2003; 131:683-689.
- 5.- Halevy BJ, Ash S. Infectious mononucleosis in hospitalised patients. *Am J Sci* 1988; 295:122-124.
- 6.- Tsai MH, Hsu CY, Yen MH, Yan DC, Chiu CH, Huang YC, et al. Epstein-Barr virus-associated infectious mononucleosis and risk factor analysis for complications in hospitalized children. *J Microbiol Immunol Infect* 2005; 38:255-261.
- 7.- Timár L, Budai J, Loller M. A prospective study on infectious mononucleosis in childhood-symptoms, serology, Epstein-Barr virus specific leukocyte migration inhibition. *Infection* 1982;10: 139-143.
- 8.- Brigden ML, Thompson S, Brigden S. Infectious mononucleosis in an outpatient population: diagnostic utility of 2 automated haematology analysers and the sensitivity and specificity of Hoagland's criteria in heterophile-positive patients. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123:875-882.
- 9.- Finkel M, Parker GW, Fanslau HA. The hepatitis of infectious mononucleosis: Experience with 235 cases. *Milit Med* 1964; 129: 533-538.

CORRESPONDENCIA:

Santiago González Quijada MD. PhD.

Servicio de Medicina Interna del Complejo Asistencial Universitario de Burgos

Hospital Universitario de Burgos

Avda. Islas Baleares, 3.

09006 Burgos. España

Mail: sgq@hubu.es

Comentario del revisor Prof. José María Eirós Bouza MD. PhD. Catedrático de Microbiología de la Universidad de Valladolid. Jefe de Sección del Hospital Río Hortega. Valladolid. España.

Las contribuciones sobre la Infección por virus de Epstein Barr en adultos son siempre bienvenidas por el atractivo patogénico que suscitan.

La serie del grupo de internistas del Complejo Asistencial Universitario de Burgos constituye una aportación interesante en al menos dos aspectos. De una parte reclutan pacientes atendidos en hospitalización a lo largo de catorce años y de otra delimitan las manifestaciones clínicas en un rango etario poco documentado. Sus hallazgos permiten al Clínico establecer la sospecha de este cuadro en la práctica asistencial

Comentario del revisor Prof. Valentín del Villar Sordo MD. PhD. Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital de Soria. Soria. España

Estudio observacional retrospectivo en el que se analizan, bajo el punto de vista clínico, 217 pacientes con Mononucleosis Infecciosa ingresados durante el periodo 1995-2008. Entre los resultados destaca que los niños y adultos jóvenes presentan más formas atípicas y complicaciones.

Estos aspectos deben ser tenidos siempre en cuenta por el clínico, ya que propician el ingreso hospitalario por Mononucleosis Infecciosa en ambos grupos de edad

Recibido, 23 de mayo de 2012

Publicado, 18 de noviembre de 2012



ISSN: 1697-090X

[Inicio Home](#)

[Indice del
volumen Volume
index](#)

[Comité Editorial
Editorial Board](#)

[Comité Científico
Scientific
Committee](#)

[Normas para los
autores
Instruction to
Authors](#)

[Derechos de autor
Copyright](#)

[Contacto/Contact:
!\[\]\(cf531ed27e91483460120fcc057b3901_img.jpg\)](#)

PES PLANUS (FLATFOOT) IN MALE AND FEMALE ADULTS OF BAYELSA- NIGERIA

Dare NW, Onyije FM, Osoma S.

Department of Human Anatomy, Faculty of Basic Medical Sciences,
College of Health Sciences, Niger Delta University,
Wilberforce Island. Nigeria

pastordarewn@yahoo.com

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:17-21.

Comment of the reviewer Prof. Dr. Alberto Enrique D'Ottavio, PhD. Catedrático de la Facultad de Ciencias Médicas, Investigador del Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Rosario. Rosario. Argentina

Comment of the reviewer Larisa Ivón Carrera PhD. Profesora e Investigadora, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe (Argentina)

SUMMARY:

The aim of this research was to provide and document an accurate record of the noticeable occurrence of *pes planus* amongst adults in Bayelsa State (Nigeria).

A random sample of 510 persons (235 males and 275 females; aged 33 ± 15 years and totally Bayelsa's natives) was analyzed. An ink imprint on white paper of their weight-bearing surface of the feet was carried out with diagnostic purposes. 48 males (20.4%) and 81 females (29.5%) revealed *pes planus* whereas the rest of the sample did not show it. The incidence of *pes planus* was 1:4.

The well known frequent excess of bodyweight in these native groups may be responsible for this abnormality and obliges to pay due attention to the related habits. Furthermore, the obtained results could probably have anthropological and forensic medicine impact.

KEYWORDS: Pes planus, Males, Females, Adults, Bayelsa State.

RESUMEN:

Este trabajo intenta presentar un registro ajustado de la perceptible ocurrencia de *pes planus* en adultos del Estado de Bayelsa (Nigeria).

Una muestra aleatoria de 510 personas (235 hombres y 275 mujeres, con edad 33 ± 15 años y todos indígenas del estado) fue analizados. Una impresión en tinta sobre papel blanco de las plantas de sus pies fue usada con propósitos diagnósticos. 48 hombres (20.4%) y 81 mujeres (29.5%) revelaron *pes planus* mientras que el resto no lo hizo. La incidencia de tal patología fue 4:1.

El ya conocido y frecuente aumento de peso en estos grupos indígenas puede ser responsabilizado por esta anormalidad y fuerza

a poner el acento en los hábitos relacionados con la obesidad. Además, se considera que los resultados obtenidos podrían poseer impacto antropológico y médico forense.

PALABRAS CLAVE: Pie plano, hombres, mujeres, adultos, Estado de Bayelsa

INTRODUCTION

Deformities of the fingers and toes are common conditions encountered by orthopedics and pediatricians in clinics. Some of these abnormalities are acquired, caused by traumatic injuries, neuromuscular pathologies, systemic diseases, or mechanical problems secondary to extrinsic pressures, while others are congenital¹.

Pes planus (flat foot), defined as the postural appearance of the foot, with depressed medial longitudinal arch and a pronated subtalar joint and the calcaneus assuming a valgus position underweight bearing conditions, is the most common foot pathology not only in patients of all ages in general but in paediatric orthopaedic practice in particular¹.

In this sense, it is about five times as frequent in children as cavus foot and is felt to be present in about one out of nine children 1. Far from Nigeria, it was reported that flat foot was found to be the most prevalent congenital abnormalities in Turkish school children aged 6-15 years².

Children with flexible and painless flat feet do not require any treatment. Commonly asymptomatic, they are brought to the paediatricians by concerned parents because of the familiar layman perception that flatfoot will be associated with pain in adulthood. Conversely, it is imperative that rigid flat foot be evaluated to ascertain the presence of congenital vertical talus, tarsal coalition, or skew-foot, because all of these usually require surgical intervention³⁻⁵.

Pes planus becomes a musculoskeletal disorder of the feet in adolescents and adults resulting in a "fallen arch", particularly, the medial part of the longitudinal arches. In this foot pathology, the plantar calcaneo-navicular and long plantar ligaments appear abnormally stretched during long period of standing, traumatic injuries, systematic disease or mechanical problems secondary to extrinsic pressure. This may cause weakness or tearing of the plantar calcaneo-navicular ligament that supports the head of the talus, producing inferio-medial displacement of the head of the talus³⁻⁵.

Adults may develop painful flat feet after loss of posterior tibialis function⁶.

Experts in biomechanics and pathomechanics of the lower extremity understand the importance of subtalar joint pronation in association with midtarsal joint collapse, and the decreased stability effect in the proximal lower extremity joints (knee, hip, lower back). Functional foot orthoses can correct excessive pronation and may help with knee, hip or back pain. Custom functional foot orthoses that incorporate minimal cast fill, medial heel skive, and/or inversion can reposition the foot in a less pronated position. This correction may have either a preventive effect or a reversal effect on back or knee pain⁷.

Exceeding the relevance of an accurate diagnosis of *pes planus* during childhood and adolescents, this research aims to provide and document a reliable record on these studied patients taking into account the noticeable occurrence of *pes planus* amongst adults in Bayelsa State (Nigeria).

MATERIALS AND METHODS

A random sample of 510 adults (235 males and 275 females; aged 33 ± 15 years and totally Bayelsa's natives) were analyzed. An ink imprint on white paper of their weight-bearing surface of the feet was diagnostically carried out.

The current international ethical regulations were followed in this study.

Statistics: data were analyzed using unpaired t test, using Graph Pad InStat® software. P values < 0.05 were considered significant.

RESULTS.

As seen in Table 1, 48 males (20.4%) and 81 females (29.5%) (i.e: 129 patients - 25.3% -) revealed *pes planus* whereas the rest of the sample did not show it. Within the age groups, those aged between 18 and 22 put into evidence the higher percentage of *pes planus* in both sexes. However, no significant differences ($p > 0.05$) were detected between sexes in the studied sample.

Table 1: Presence of *Pes Planus* in adult males and females native groups

Age Groups	Total	Males	Percentage	Females	Percentage
18-22	204	17	8.3	40	19.6
23-27	209	16	7.7	30	14.4
28-32	64	12	18.8	8	12.5
33-37	15	0	0	2	13.3
38-42	13	2	15.38	1	7.7
43-47	5	1	20	0	0
	510	48	9.4	81	15.9

Paired t test: The two-tailed P value is 0.2610 considered not significant

In Table 2, a comparison of the Prevalence of *Pes planus* in different populations of the world including Bayelsa State (Nigeria) was achieved. Data related with Bayelsa (Nigeria) are high.

Table 2: Comparison of the Prevalence of *Pes planus* in different populations of the world including Bayelsa State (Nigeria)

Country	Male %	Female %	Both sex %	Reference
Akwai bom Nigeria	5.8	7.6	13.4	Eluwa et al. ¹
Anambra- Nigeria	6.8	7.1	13.9	Ukoha et al. ¹⁶
Tanzania	-	-	20.3	Igbigbi et al. ¹⁸
Cross rivers- Nigeria	8.80	13.40	22.20	Eluwa et al. ¹⁵
Malawi	-	-	24.3	Igbigbi and Msamati ⁹
Yoruba- Nigeria	13	12	25	Umar and Adeyemi ⁸
Bayelsa- Nigeria	9.4	15.9	25.3	Present study
Israel	17.17	11.65	28.82	Lakstein et al. ¹²
Kenya	-	-	43.2	Igbigbi et al. ¹⁸
Anatolia Turkey	35.5	28.5	64	Aymelek ¹⁷

DISCUSSION:

In accordance with the results obtained in the random sample here studied and reported in Tables 1 and 2 the percentage of persons affected by *pes planus* (flat foot) in Bayelsa State was 25.3% (ratio 4:1). This percentage acquires relevance because of its compatibility with the prevalence (25% -13% in males and 12% in females-) recorded in a study carried out among school children⁸. It also agrees with other communication where the incidence of *pes planus* was 242.6/1000 (24.26%) using the arch index method⁹ as well as with data reported in Israel 28.82% (17% in males and 11.65% in females)¹². Conversely, there exists reports with lower data as those carried out among school children in Port Harcourt where unilateral *pes planus* was 2.22 % and bilateral ones 0.6%¹⁰ and other performed in Akwa Ibom (11.2%)¹¹.

Concerning gender, the results here stated with no significant differences between sexes but higher in females harmonize with supported by Ndife (1998) revealing that females are more prone to *pes planus*¹³ and contradicts others where males prevail over females in this regard^{12,14}.

The well known frequent excess of bodyweight in these native groups resulting of a different way of life including fast foods, reduction in movement and spotting activity and inappropriate foot may be responsible for this increasing abnormality and obliges to pay due attention to the related habits. In this regard, in Nigerian Yoruba tribe flexible flat foot prevails in males who are obese, particularly in those aged 7-8⁸.

To sum up, it is here revealed that one out of every four adult Bayelsans has *pes planus*, Its potential relevance for anthropology and forensic medicine lead us to suggest subsequent further studies to classify various types of *pes planus* since it could be used for classifying humans from different regions.-

REFERENCES

1. Lee, M. Diagnosis and Treatment of Adult Flatfoot. J Foot Ankle Surg. 2005; 44 :78-113
2. Yucesan SH, Dindar I, Olcay H et al. Prevalence of congenital abnormalities in Turkish school children. Eur. J. Epidemiol. 1993; 9: 373-380
3. Kim HW, Weinstein SL. Flatfoot in children: Differential diagnosis and management. Curr Orthop. 2000; 14:441-447
4. Bresnahan P. Flatfoot deformity pathogenesis. Atrilogy. Clin Pediatr Med Surg. 2000; 17:505-512
5. Van Boerum DH, Sangeorzan BJ. Biomechanics and pathophysiology of flat foot. Foot Ankle Clin 2003; 8:419-430
6. Rose REC. Flat feet in Children: When should they be treated? Internet J Orthop Surg. 2007 5: 1
7. Kosashvili Y, Fridman T, Backstein D. The correlation between pesplanus and anterior knee or intermittent low back pain. Foot Ankle Int. 2008; 29:910-913
8. Umar MBT, Adeyemi P. Incidence of Flat Foot and Anthropometric Comparison between Flat and Normal Foot of the Yoruba Ehtnic Group of Nigeria. Res J Appl Sc. 2010; 5: 6, 412-416.
9. Igbigbi PS, Msamati BC. The footprint ratio as a predictor of pes planus: a study of indigenous Malawians. J Foot Ankle Surg. 2002; 41: 394-397
10. Didia B C, Asomugha AL. The incidence of flatfoot amongst athletes in Port Harcourt. J Exp Clin Anat; 2004; 3: 58-59
11. Eluwa MA, Omini RB, Kpela T, et al. The Incidence of Pes Planus Amongst Akwalbom State Students In The University Of Calabar. The Internet J of Forensic Sc. 2009; 3; 2 (Available in <http://www.ispub.com/journal/the-internet-journal-of-forensic-science>)
12. Lakstein D, Fridman T, Ziv YB, Kosashvili Y. Prevalence of anterior knee pain and pesplanus in Israel defense force recruits. Mil Med. 2010;175:855-857
13. Ndife J. Epidemiological survey of foot problems in a predominantly subsistence farming community. African J of Ecology 1998; 36:2-5
14. Chang JH, Wang SH, KuoCL, Shen HC, Hong YW, Lin LC. Prevalence of flexible flat foot in Taiwanese School aged children in relation to obesity, gender and age. Eur J. Pediatrics, 2010; 169:447-452
15. Eluwa MA, Omini RB, Akpantah AO, Ekanem TB. Incidence of Pes planus amongst the people of Cross River State Global Journal of Medical Sciences 2008; 7, 1-2
16. Ukoha UU, Egwu OA, Okafor IJ, Ogugua PC, Igwenagu VU. Pes Planus: Incidence Among An Adult Population In Anambra State, Southeast Nigeria. Int J Biomed Adv Res 2012; 3:3 (Available in <http://www.ssjournals.com/index.php/ijbar/article/view/286>)
17. Cetin A, Sevil S, Karaoglu L, Yucekaya B. Prevalence of flat foot among elementary school students, in rural and urban areas and at suburbs in Anatolia. Eur J Orthop Surg Traumatol 2011; 21: 5: 327-331
18. Igbigbi PS, Msamati BC, Shariff MB. Arch index as a predictor of pesplanus: a comparative study of indigenous Kenyans and Tanzanians. J Am Pediatr Med Assoc. 2005; 95:273-276

CORRESPONDENCE:

Nervey W. Dare
Department of Human Anatomy,
Faculty of Basic Medical Sciences, College of Health Sciences,
Niger Delta University,
Wilberforce Island
Mail: pastordarewn@yahoo.com

Comment of the reviewer Prof. Dr. Alberto Enrique D'Ottavio, PhD. Catedrático de la Facultad de Ciencias Médicas, Investigador del Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Rosario. Rosario. Argentina.

Este trabajo, de sencilla concepción y de indudable valor local, puede adquirir determinado impacto regional y hasta excederlo según lo consideren los lectores interesados en ortopedia médica.

Los pies planos, tema que aborda analizando una muestra aleatoria dentro de una población indígena nigeriana, poseen valor etiopatogénico, diagnóstico y terapéutico, cuando se debe recurrir a esta última etapa y deja entrever una repercusión antropológica y médica forense que, a mi modesto entender, no debiera ser infravalorada.

Comment of the reviewer Larisa Ivón Carrera PhD. Profesora e Investigadora, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe (Argentina)

El pie plano del adulto es abordado por este equipo de investigación en un Estado de Nigeria mediante una técnica básica que, no obstante no haber sido complementada por otras de mayor complejidad, arroja resultados preliminares aceptables en el contexto antedicho.

Puede que lo más rescatable de esta empresa sea, excediendo los resultados obtenidos y las comparaciones efectuadas, la posibilidad forense y antropológica que sus autores plantean como culminación de su tarea.

Received September 20, 2012
Published November 20, 2012.



VALORES COMPARADOS DE EXCRECIÓN FRACCIONAL DE MAGNESIO Y FÓSFORO PERITONEAL Y URINARIO ENTRE PACIENTES EN DIÁLISIS PERITONEAL CON DIURESIS RESIDUAL, INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (ESTADIO III) Y VOLUNTARIOS SANOS

Musso CG¹, Rodriguez Macias E¹, Medina A¹, Heredia A¹,
Juarez R¹, Rivera H¹, de Miguel R²

Servicios de Nefrología¹ y Laboratorio Central².
Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina.

[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:22-26.

[English version](#)

[Comentario del revisor Comentario del revisor Dr. Jesús Garrido MD.](#) Responsável pelo Sector de Hemodiálise. Unidade de Nefrologia e Diálise. Hospital São Teotónio. Viseu. Portugal

[Comentario de la revisora Dra. María Jesús Izquierdo Ortiz MD.](#) Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

RESUMEN:

Introducción: Entre los electrolitos que pueden alterarse en la insuficiencia renal crónica avanzada se encuentran el magnesio y el fósforo. Asimismo, se ha reportado en la literatura que en la nefropatía crónica existe un progresivo incremento en la excreción fraccional de los electrolitos a medida que se reduce el filtrado glomerular, sin embargo esto no ha sido estudiado en profundidad aun para estos iones divalentes.

Por esta razón, se decidió realizar entonces un estudio a fin de evaluar los valores comparados de excreción fraccional de magnesio y fósforo peritoneal y urinario entre pacientes en diálisis peritoneal con diuresis residual (ERC-V), insuficiencia renal crónica (estadio III) y voluntarios sanos.

Resultados: Los valores de excreción fraccional urinaria (EFu) de magnesio (Mg) y fósforo (P) fueron significativamente ($p < 0.05$) más bajos en los voluntarios sanos (EFuMg: $3 \pm 1\%$, EFuP: $9 \pm 0.5\%$), y significativamente más altos en los ERC-V (EFuMg: $30 \pm 4\%$, EFuP: $40 \pm 0.2\%$).

En cuanto a la excreción fraccional peritoneal (EFp) del fósforo y del magnesio, ésta fue significativamente ($p < 0.05$) más alta (EFpMg: $36 \pm 5\%$, EFpP: $62 \pm 9\%$) que aquella lograda por vía urinaria en el mismo grupo: ERC-V.

Conclusión: Los valores de excreción fraccional urinaria de magnesio y fósforo fueron significativamente más elevados en los

portadores de nefropatía crónica avanzada (ERC-V), siendo a su vez dichos valores significativamente más bajos que aquellos logrados por la excreción fraccional peritoneal de dichos iones divalentes en la misma población: ERC-V).

PALABRAS CLAVE: Magnesio. Fósforo. Diálisis peritoneal.

SUMMARY:

Background: Magnesium and phosphorus are one of the electrolytes whose balance is altered during advanced chronic renal failure (CRD-V). It has already been reported in the literature that there is a progressive increase in urinary electrolyte excretion in CRD-V in relation with the glomerular filtration rate reduction, but it has not been extensively studied yet for these divalent ions.

Therefore we decided to perform a study for evaluating compared values of urinary and peritoneal fractional excretion of these divalent ions (magnesium and phosphorus) among patients on peritoneal dialysis with residual diuresis (CRD-V), stage III - chronic renal failure, and healthy volunteers.

Results: Urinary fractional excretion (FEu) of magnesium (Mg) and phosphorus (P) were significantly ($p < 0.05$) lower in healthy volunteers (FEuMg: $3 \pm 1\%$, FEuP: $9 \pm 0.5\%$), and significantly higher in CRD-V (FEuMg: $30 \pm 4\%$, FEuP: $40 \pm 0.2\%$). Regarding peritoneal fractional excretion (FEp) of magnesium and phosphorus, they were significantly higher ($p < 0.05$) (FEpMg: $36 \pm 5\%$, FEpP: $62 \pm 9\%$) than the urinary ones in the same population: CRD-V.

Conclusion: Magnesium and phosphorus urinary fractional excretion values were significantly higher in the CRD-V group, while these values were significantly lower than the peritoneal ones in the same population: CRD-V.

KEYWORDS: Magnesium. Phosphorus. Peritoneal Dialysis.

INTRODUCCIÓN

Entre los electrolitos que pueden alterarse en la insuficiencia renal crónica avanzada se encuentran iones divalentes, tales como el magnesio y el fósforo¹⁻².

Asimismo, se ha reportado en la literatura que en la nefropatía crónica existe un progresivo incremento en la excreción fraccional de los electrolitos a medida que se reduce el filtrado glomerular, sin embargo esto no ha sido estudiado en profundidad aun para estos iones divalentes²⁻³.

Surgió entonces la inquietud de documentar los valores comparados de excreción fraccional de magnesio y fósforo urinario y en líquido dialítico peritoneal en pacientes en tratamiento bajo dicha modalidad dialítica, y asimismo documentar también la excreción fraccional de ambos iones en la orina de pacientes en diálisis peritoneal con diuresis residual, portadores de insuficiencia renal crónica (estadio III) y voluntarios sanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se midió en 19 pacientes adultos en diálisis peritoneal ambulatoria con igual tipo de membrana peritoneal (promedio), concentración de glucosa (2.3%) y magnesio (0.75 mmol/l) en bolsa, esquema dialítico, filtrado glomerular residual (8 ml/min/1.73 m²), dieta, magneemia y fosfatemia; sus valores de magnesio y fósforo séricos (MgS), peritoneales y urinarios.

Además se midió magnesuria, fosfaturia, magneemia y fosfatemia en 20 pacientes insuficientes renales crónicos (estadio III) y en 10 voluntarios sanos.

En todos ellos se calculó excreción fraccional de magnesio (EFMg) y de fósforo (EFP) peritoneal y urinaria aplicando las siguientes fórmulas:

- Excreción fraccional urinaria (EFu):

$$\left[\frac{\text{U}_{\text{urinario}} (\text{mg/dl}) \times \text{creatininemia} (\text{mg/dl})}{\text{U}_{\text{sérica}} (\text{mg/dl}) \times \text{creatininuria} (\text{mg/dl})} \right] \times 100$$
- Excreción fraccional peritoneal (EFp):

$$\left[\frac{\text{U}_{\text{peritoneal}} (\text{mg/dl}) \times \text{creatininemia} (\text{mg/dl})}{\text{U}_{\text{sérica}} (\text{mg/dl}) \times \text{creatininuria} (\text{mg/dl})} \right] \times 100$$

Al: magnesio o fósforo

Todos los valores obtenidos fueron ajustados por la fracción difusible de ambos iones (magnesio y fosforo: 0.8) y por el contenido de magnesio en bolsa peritoneal)⁴⁻⁵.

El análisis estadístico se realizó aplicando la prueba de Wilcoxon.

RESULTADOS

No se documentó diferencia estadísticamente significativa entre los valores séricos ni del magnesio ni del fósforo entre los grupos estudiados: sanos - IRC estadio III - IRC estadio V (Tabla 1).

Tabla 1: Valores séricos de magnesio (MGs) y fósforo (Ps) entre voluntarios sanos, insuficientes renales crónicos estadio (IRC) III y V

	Sanos	IRC estadio III	IRC estadio V	P
MGs (mg/dl)	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.5	NS
Ps (mg/dl)	4.7 ± 2	4.5 ± 2	4.5 ± 1	NS

Por el contrario, si se documentó diferencia estadísticamente significativa entre los valores urinarios - peritoneales del magnesio y del fósforo entre los grupos estudiados: sanos - IRC estadio III - IRC estadio V (Tabla 2).

Tabla 2: Excreción fraccional urinaria (EFu) y peritoneal (EFp) de magnesio (MG) y fósforo (P) entre voluntarios sanos, insuficientes renales crónicos estadio (IRC) III y V

	Sanos	IRC estadio III	IRC estadio V	P
EfuMG (%)	3 ± 1	7.2 ± 4	30 ± 4	< 0.05
EfpMG (%)	--	--	36 ± 5	< 0.05
EfuP (%)	9 ± 0.5	25 ± 0.9	40 ± 0.2	< 0.05
EfpP (%)	--	--	62 ± 9	< 0.05

DISCUSIÓN:

En este estudio, no se halló diferencia estadísticamente significativa en los valores séricos ni del magnesio ni del fósforo entre los tres grupos estudiados (voluntarios sanos, insuficientes renales crónicos - estadio III e insuficientes renales crónicos - estadio V), mientras que si se documentó una diferencia estadísticamente significativa en los valores de excreción fraccional urinaria y peritoneal de magnesio y fósforo entre los tres grupos estudiados.

En cuanto a los valores de excreción fraccional urinaria de estos iones divalentes, éstos fueron significativamente más bajos en los voluntarios sanos y significativamente más altos en los insuficientes renales crónicos - estadio V. Este hallazgo refleja el hecho fisiológico ya conocido de que la excreción fraccional del magnesio y del fósforo se incrementa progresivamente con la reducción del filtrado glomerular inherente a la nefropatía crónica⁶.

Con respecto a los valores de excreción fraccional peritoneal de magnesio y fósforo, éstos fueron significativamente más elevados que los urinarios en la misma población: insuficientes renales crónicos - estadio V. Este hallazgo refuerza el concepto de que el filtrado glomerular y el filtrado peritoneal no son fenómenos fisiológicamente idénticos⁷.

CONCLUSIÓN:

En este estudio se documentó que los valores de excreción fraccional urinaria de magnesio y fósforo son significativamente más bajos en los voluntarios sanos y más altos en los portadores de nefropatía crónica avanzada (ERC-V), y que la excreción fraccional peritoneal de estos iones divalentes es significativamente mayor que aquella lograda en orina por la misma población:

ERC-V).

REFERENCIAS

- 1) Musso CG. Magnesium metabolism in health and disease. *Int Urol Nephrol*. 2009;41(2):357-62
- 2.- Musso CG, Juarez R, Vilas M, Navarro M, Rivera H, Jauregui R. Renal calcium, phosphorus, magnesium and uric acid handling: comparison between stage III- chronic kidney disease and healthy oldest old. *Int Urol Nephrol* (in press)
- 3.- Musso CG, Alvarez Gregory J, Macías Núñez JF. Renal handling of uric acid, magnesium, phosphorus, calcium, and acid base in the elderly. In Macías Núñez, Cameron S, Oreopoulos D (Eds). *Renal Ageing: Health and Disease*. 2008: 155-171
- 4.- Swartz R. Fluids, electrolytes, and acid-base changes during renal failure. In Kokko J, Tannen R, eds. *Fluids and electrolytes*. Philadelphia: WB Saunders, 1996: 496-499
- 5.- Port F, Young E. Fluids and electrolytes disorders in dialysis. In Kokko J, Tannen R (Eds). *Fluids and electrolytes*. 1996 W.B.Saunders. Philadelphia : 542-44
- 6.- Rennke H, Denker B. *Renal pathophysiology*. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 2007
- 7.- Krediet R. The physiology of peritoneal solute transport and ultrafiltration. In Gokal R, Khanna R, Krediet R, Nolph K. (Eds). *Textbook of peritoneal dialysis*. Dordrecht. Kluwer Academic Publishers. 2000 : 137-172

CORRESPONDENCIA:

Dr. Carlos G. Musso
Servicio de Nefrología
Hospital Italiano de Buenos Aires
Argentina.
Mail:[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)

Comentario del revisor Dr. Jesús Garrido MD. Responsável pelo Sector de Hemodiálise. Unidade de Nefrologia e Diálise. Hospital São Teotónio. Viseu. Portugal

The paper of Musso et al, shows more data about the adaptive physio-pathologic mechanisms of kidney in chronic renal disease and it is specially interesting, the data about the peritoneal membranous behavior, in patients with stage 5 renal chronic disease, that proves to be different to the kidney.

Comentario de la revisora Dra. María Jesús Izquierdo Ortiz MD. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

Un estudio muy interesante; con los resultados de este trabajo se confirma la fisiología ocurrida en el riñón a medida que progresa la enfermedad renal y desciende el filtrado glomerular (FG). A medida que avanza la enfermedad renal, la capacidad tubular de eliminar fósforo (P) desciende, si hablamos en términos de pool total, sin embargo, si es la excreción fraccional urinaria de fósforo (EFuP) lo que medimos, ocurre efectivamente lo que ilustra el presente trabajo, que aumenta.

Se explica así como en los resultados del presente trabajo, la EFuP en voluntarios sanos, fuera significativamente ($p < 0.05$) más baja (EFuP: $9 \pm 0.5\%$), que en los enfermos renales crónicos estadio V (ERC-V) (EFuP: $40 \pm 0.2\%$). Lo mismo ocurre con la eliminación de magnesio (Mg), si atendemos a la EFuMg y no al pool total eliminado de Mg, efectivamente, la EFuMg en sanos (EFuMg: $3 \pm 1\%$) es menor que en ERC-V (EFuMg: $30 \pm 4\%$).

Actualmente cobra mucha importancia el papel que desempeña el P en el enfermo renal, como uno de los marcadores que inicialmente se elevan en la progresión de la enfermedad renal (antes que la propia PTH y que el propio descenso del FG). Se sabe que a medida que progresa la enfermedad renal, se produce un descenso en la excreción urinaria de P total, entre otros factores por déficit de FGF 23 y de su cofactor el Klotho, produciéndose un incremento en los niveles de P en sangre. Esta elevación de P en sangre (por parte del hueso y del riñón), estimula a su vez de forma independiente la secreción de PTH, incrementando en mayor medida la resorción ósea y a su vez los niveles de P séricos a medida que avanza la enfermedad renal.

En este trabajo también se analiza la excreción fraccional peritoneal del fósforo (EFpP) y Mg (EFpMg). El hecho de que la EFp del fósforo fuese significativamente ($p < 0.05$) más alta (EFpP: $62 \pm 9\%$) que la excreción fraccional urinaria de fósforo en la misma población, apoya el hecho de que los pacientes en diálisis peritoneal, a pesar de tener poca diuresis residual, consigan un mejor control del P sérico con respecto a la población de hemodiálisis, quizás ayudado por esta eliminación peritoneal, entre otros factores.

Recibido, 27 de mayo de 2012
Publicado, 21 de noviembre de 2012



ISSN: 1697-090X

[Inicio Home](#)

[Indice del
volumen Volume
index](#)

[Comité Editorial
Editorial Board](#)

[Comité Científico
Scientific
Committee](#)

[Normas para los
autores
Instruction to
Authors](#)

[Derechos de autor
Copyright](#)

[Contacto/Contact:](#)



COMPARED VALUES OF URINARY AND PERITONEAL FRACTIONAL EXCRETION OF MAGNESIUM AND PHOSPHORUS AMONG PATIENTS ON PERITONEAL DIALYSIS WITH RESIDUAL DIURESIS, CHRONIC RENAL FAILURE (STAGE III) AND HEALTHY VOLUNTEERS

Musso CG¹, Rodriguez Macias E¹, Medina A¹, Heredia A¹,
Juarez R¹, Rivera H¹, de Miguel R²

Nephrology¹ and Laboratory² Divisions.
Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina.

[carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:27-31.

[Version en español](#)

[Comment of the reviewer Dr. Jesús Garrido MD.](#) Responsável pelo Sector de Hemodiálise. Unidade de Nefrologia e Diálise.
Hospital São Teotónio. Viseu. Portugal

[Comment of the reviewer Dra. María Jesús Izquierdo Ortiz MD.](#) Department of Nephrology. Hospital Universitario de Burgos.
Burgos. España

SUMMARY:

Background: Magnesium and phosphorus are one of the electrolytes whose balance is altered during advanced chronic renal failure (CRD-V). It has already been reported in the literature that there is a progressive increase in urinary electrolyte excretion in CRD-V in relation with the glomerular filtration rate reduction, but it has not been extensively studied yet for these divalent ions.

Therefore we decided to perform a study for evaluating compared values of urinary and peritoneal fractional excretion of these divalent ions (magnesium and phosphorus) among patients on peritoneal dialysis with residual diuresis (CRD-V), stage III - chronic renal failure, and healthy volunteers.

Results: Urinary fractional excretion (FEu) of magnesium (Mg) and phosphorus (P) were significantly ($p < 0.05$) lower in healthy volunteers (FEuMg: $3 \pm 1\%$, FEuP: $9 \pm 0.5\%$), and significantly higher in CRD-V (FEuMg: $30 \pm 4\%$, FEuP: $40 \pm 0.2\%$). Regarding peritoneal fractional excretion (FEp) of magnesium and phosphorus, they were significantly higher ($p < 0.05$) (FEpMg: $36 \pm 5\%$, FEpP: $62 \pm 9\%$) than the urinary ones in the same population: CRD-V.

Conclusion: Magnesium and phosphorus urinary fractional excretion values were significantly higher in the CRD-V group, while these values were significantly lower than the peritoneal ones in the same population: CRD-V.

KEYWORDS: Magnesium. Phosphorus. Peritoneal Dialysis.

RESUMEN:

Introducción: Entre los electrolitos que pueden alterarse en la insuficiencia renal crónica avanzada se encuentran el magnesio y el fósforo. Asimismo, se ha reportado en la literatura que en la nefropatía crónica existe un progresivo incremento en la excreción fraccional de los electrolitos a medida que se reduce el filtrado glomerular, sin embargo esto no ha sido estudiado en profundidad aun para estos iones divalentes.

Por esta razón, se decidió realizar entonces un estudio a fin de evaluar los valores comparados de excreción fraccional de magnesio y fósforo peritoneal y urinario entre pacientes en diálisis peritoneal con diuresis residual (ERC-V), insuficiencia renal crónica (estadio III) y voluntarios sanos.

Resultados: Los valores de excreción fraccional urinaria (EFu) de magnesio (Mg) y fósforo (P) fueron significativamente ($p < 0.05$) más bajos en los voluntarios sanos (EFuMg: $3 \pm 1\%$, EFuP: $9 \pm 0.5\%$), y significativamente más altos en los ERC-V (EFuMg: $30 \pm 4\%$, EFuP: $40 \pm 0.2\%$).

En cuanto a la excreción fraccional peritoneal (EFp) del fósforo y del magnesio, ésta fue significativamente ($p < 0.05$) más alta (EFpMg: $36 \pm 5\%$, EFpP: $62 \pm 9\%$) que aquella lograda por vía urinaria en el mismo grupo: ERC-V.

Conclusión: Los valores de excreción fraccional urinaria de magnesio y fósforo fueron significativamente más elevados en los portadores de nefropatía crónica avanzada (ERC-V), siendo a su vez dichos valores significativamente más bajos que aquellos logrados por la excreción fraccional peritoneal de dichos iones divalentes en la misma población: ERC-V).

PALABRAS CLAVE: Magnesio. Fósforo. Diálisis peritoneal.

INTRODUCTION

Magnesium and phosphorus are one of the divalent ions whose balance can be altered in the advanced chronic renal failure¹⁻².

It has already been reported in the literature, that there is a progressive increase in urinary electrolyte excretion in relation to the glomerular filtration rate reduction in chronic renal disease patients, but it has not been extensively studied yet in these divalent ions²⁻³.

Therefore we had the question of studying compared values of urinary and peritoneal fractional excretion of these divalent ions (magnesium and phosphorus) among patients on peritoneal dialysis with residual diuresis (stage V - chronic renal disease), stage III - chronic renal failure, and healthy volunteers.

MATERIAL AND METHODS

Nineteen adult patients on out-patient peritoneal dialysis who had the same type of peritoneal membrane (average), glucose concentration (2.3%) and magnesium (0.75 mmol/l) in the solution bag, dialysis scheme, residual glomerular filtration (8 ml/min/1.73 m²), diet, magnesemia and phosphatemia values, were studied. Serum, urinary and peritoneal magnesium and phosphorus values were obtained from each peritoneal dialysis volunteer.

Besides, serum and urinary magnesium and phosphorus were measured in 20 patients with chronic renal failure (stage III) as well as in 10 healthy volunteers.

In all of them fractional excretion of urinary (FEu) and peritoneal (FEp) magnesium (Mg) and phosphorus (P) were calculated applying the following formula:

- Urinary fractional excretion (FEu):

$$\left[\frac{\text{urinary } \alpha \text{ (mg/dl)} \times \text{serum creatinine (mg/dl)}}{\text{serum } \alpha \text{ (mg/dl)} \times \text{urinary creatinine (mg/dl)}} \right] \times 100$$
 - Peritoneal fractional excretion (FEp):

$$\left[\frac{\text{peritoneal } \alpha \text{ (mg/dl)} \times \text{serum creatinine (mg/dl)}}{\text{serum } \alpha \text{ (mg/dl)} \times \text{urinary creatinine (mg/dl)}} \right] \times 100$$
- α : magnesium or phosphorus

All the obtained values were adjusted according to divalent ions diffusible fraction (magnesium and phosphorus: 0.8), and to magnesium content in the peritoneal bag⁴⁻⁵.

Statistical Analysis was performed applying Wilcoxon test.

RESULTS

No significantly statistical difference was documented in the serum magnesium and phosphorus values among the studied groups: healthy, stage III-chronic renal disease (CRD-III), and peritoneal dialysis: stage V- chronic renal disease(CRD-V) (Table 1).

Table 1: Serum magnesium (MGs) and phosphorus (P) values among normal, stage III chronic renal disease (CRD-III), and stage V chronic renal disease (CRD-V)

	Normal	CRD-III	CRD-V	P
MGs (mg/dl)	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.2	2.3 ± 0.5	NS
Ps (mg/dl)	4.7 ± 2	4.5 ± 2	4.5 ± 1	NS

Conversely, a significantly statistical difference was documented in the urinary and peritoneal fractional excretion values among the above mentioned three studied groups (Table 2).

Table 2: Urinary (FEu) and peritoneal (EFp) fractional excretion of magnesium (MG) and phosphorus (P) among normal, stage III - chronic renal disease (CRD-III) and stage V - chronic renal disease (CRD-V)

	Normal	CRD-III	CRD-V	p
FeuMG (%)	3 ± 1	7.2 ± 4	30 ± 4	< 0.05
FepMG (%)	--	--	36 ± 5	< 0.05
FeuP (%)	9 ± 0.5	25 ± 0.9	40 ± 0.2	< 0.05
FepP (%)	--	--	62 ± 9	< 0.05

DISCUSSION:

In this study, there was no significant difference in serum magnesium and phosphorus values among the three studied groups (CRF in stage V, CRF stage III, healthy people), while it was found that there was a significantly statistical difference in urinary and peritoneal fractional excretion of magnesium (EFMg) and fractional excretion of phosphorus (EFP) among the studied groups.

Regarding the urinary fractional excretion values of these divalent ions, they were significantly lower in the healthy volunteers, and higher in those who suffered from the more advance chronic renal disease (CRD-V). This finding reflects the known physiological fact of the progressive renal adaptation in the handling of magnesium and phosphorus in terms of the drop in glomerular filtration rate⁶.

Regarding the peritoneal fractional excretion values of the magnesium and phosphorus, they were significantly higher compared with the urinary ones in the same population (CRD-V). This finding reinforces the concept that peritoneal and urinary filtration rate are not physiologically equal phenomena⁷.

CONCLUSION:

In this study was documented that urinary fractional excretion values of magnesium and phosphorus were significantly lower in healthy volunteers and higher in stage V-chronic renal disease, and that peritoneal fractional excretion values of these divalent ions were higher than the urinary ones.

REFERENCES

- 1.- Musso CG. Magnesium metabolism in health and disease. *Int Urol Nephrol*. 2009;41(2):357-62
- 2.- Musso CG, Juarez R, Vilas M, Navarro M, Rivera H, Jauregui R. Renal calcium, phosphorus, magnesium and uric acid handling: comparison between stage III- chronic kidney disease and healthy oldest old. *Int Urol Nephrol* (in press)
- 3.- Musso CG, Alvarez Gregory J, Macías Núñez JF. Renal handling of uric acid, magnesium, phosphorus, calcium, and acid base in the elderly. In Macías Núñez, Cameron S, Oreopoulos D (Eds). *Renal Ageing: Health and Disease*. 2008: 155-171
- 4.- Swartz R. Fluids, electrolytes, and acid-base changes during renal failure. In Kokko J, Tannen R, eds. *Fluids and electrolytes*. Philadelphia: WB Saunders, 1996: 496-499
- 5.- Port F, Young E. Fluids and electrolytes disorders in dialysis. In Kokko J, Tannen R (Eds). *Fluids and electrolytes*. 1996 W.B.Saunders. Philadelphia : 542-44
- 6.- Rennke H, Denker B. *Renal pathophysiology*. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 2007
- 7.- Krediet R. The physiology of peritoneal solute transport and ultrafiltration. In Gokal R, Khanna R, Krediet R, Nolph K. (Eds). *Textbook of peritoneal dialysis*. Dordrecht. Kluwer Academic Publishers. 2000 : 137-172

CORRESPONDENCE:

Dr. Carlos G. Musso
Servicio de Nefrología
Hospital Italiano de Buenos Aires
Argentina.
Mail: [carlos.musso @ hospitalitaliano.org.ar](mailto:carlos.musso@hospitalitaliano.org.ar)

Comment of the reviewer Dr. Jesús Garrido MD. Responsável pelo Sector de Hemodiálise. Unidade de Nefrologia e Diálise. Hospital São Teotónio. Viseu. Portugal

The paper of Musso et al, shows more data about the adaptive physio-pathologic mechanisms of kidney in chronic renal disease and it is specially interesting, the data about the peritoneal membranous behavior, in patients with stage 5 renal chronic disease, that proves to be different to the kidney.

Comment of the reviewer Dra. María Jesús Izquierdo Ortiz MD. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

Un estudio muy interesante; con los resultados de este trabajo se confirma la fisiología ocurrida en el riñón a medida que progresa la enfermedad renal y desciende el filtrado glomerular (FG). A medida que avanza la enfermedad renal, la capacidad tubular de eliminar fósforo (P) desciende, si hablamos en términos de pool total, sin embargo, si es la excreción fraccional urinaria de fósforo (EFuP) lo que medimos, ocurre efectivamente lo que ilustra el presente trabajo, que aumenta.

Se explica así como en los resultados del presente trabajo, la EFuP en voluntarios sanos, fuera significativamente ($p < 0.05$) más baja (EFuP: $9 \pm 0.5\%$), que en los enfermos renales crónicos estadio V (ERC-V) (EFuP: $40 \pm 0.2\%$). Lo mismo ocurre con la eliminación de magnesio (Mg), si atendemos a la EFuMg y no al pool total eliminado de Mg, efectivamente, la EFuMg en sanos (EFuMg: $3 \pm 1\%$) es menor que en ERC-V (EFuMg: $30 \pm 4\%$).

Actualmente cobra mucha importancia el papel que desempeña el P en el enfermo renal, como uno de los marcadores que inicialmente se elevan en la progresión de la enfermedad renal (antes que la propia PTH y que el propio descenso del FG). Se sabe que a medida que progresa la enfermedad renal, se produce un descenso en la excreción urinaria de P total, entre otros factores por déficit de FGF 23 y de su cofactor el Klotho, produciéndose un incremento en los niveles de P en sangre. Esta elevación de P en sangre (por parte del hueso y del riñón), estimula a su vez de forma independiente la secreción de PTH, incrementando en mayor medida la resorción ósea y a su vez los niveles de P séricos a medida que avanza la enfermedad renal.

En este trabajo también se analiza la excreción fraccional peritoneal del fósforo (EFpP) y Mg (EFpMg). El hecho de que la EFp del fósforo fuese significativamente ($p < 0.05$) más alta (EFpP: $62 \pm 9\%$) que la excreción fraccional urinaria de fósforo en la misma población, apoya el hecho de que los pacientes en diálisis peritoneal, a pesar de tener poca diuresis residual, consigan un mejor control del P sérico con respecto a la población de hemodiálisis, quizás ayudado por esta eliminación peritoneal, entre otros factores.



Received, May 27, 2012
Published, November 21, 2012



ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del
volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific
Committee

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



DEVELOPMENT OF A MULTIPLE-LOCUS VARIABLE NUMBER OF TANDEM REPEAT ANALYSIS (MLVA) FOR *HELICOBACTER PYLORI* AND ITS APPLICATION TO *HELICOBACTER PYLORI* ISOLATES FROM ROSTOV REGION, RUSSIA

**Vladimir M. Sorokin, Ruslan V. Pisanov, Elena A. Bereznyak,
Lubov A. Prozorova.**

**Rostov-on-Don Institute for Plague Research
Rostov-on-Don.
Russia**

Vladimir M. Sorokin [soroka53 @ mail.ru](mailto:soroka53@mail.ru)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:32-39.

Comment of the reviewer Prof. Dr. José María Eirós Bouza MD, PhD. Catedrático de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid. Valladolid. España.

Comment of the reviewer Dra. María Ángeles Mantecón, PhD. Department of Microbiology. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

SUMMARY:

Stomach infection with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is the second most common infectious disease of humans.

The severe pathological consequences of this infection include gastric and duodenal ulcer disease, the development of gastric mucosal atrophy, gastric carcinoma, and, more rarely, malignant tumors of the lymphoma. *H. pylori* infections cause very high morbidity and mortality and are of particular concern in developing countries, where *H. pylori* prevalences as high as 90% have been reported.

The population of *H. pylori* shows a high genomic variability among isolates. And the polymorphism of repeat-units of genomics had participated the important process of evolution. A variety of molecular typing tools have been developed to access genetic relatedness in *H. pylori* isolates. However, there is still no standard genotyping system of this bacterium.

The MLVA (Multi-Locus of Variable number of tandem repeat Analysis) method is useful for performing phylogenetic analysis and is widely used in bacteria genotyping; however, there's little application in *H. pylori* analysis.

This article is the first application of the MLVA method to investigate *H. pylori* isolates in Russia. MLVA of 4 VNTR loci with high discrimination power based on 10 candidates were performed on a collection of 22 strains of *H. pylori* which originated from Rostov region of Russia. This method provides a starting point on which improvements to the method and comparisons to other techniques can be made.

KEYWORDS: *Helicobacter pylori*. VNTR genotyping. Cluster analysis

RESUMEN: DESARROLLO DE UN "MULTIPLE-LOCUS VARIABLE NUMBER OF TANDEM REPEAT ANALYSIS" (MLVA) PARA *HELICOBACTER PYLORI* Y SU APLICACIÓN AL *HELICOBACTER PYLORI* AISLADO EN LA REGIÓN DE ROSTOV, EN RUSSIA.

La infección del estómago por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es la segundo más común de las enfermedades infecciosas humanas.

Las graves consecuencias patológicas de esta infección incluyen úlcera gástrica y úlcera duodenal, el desarrollo de atrofia de la mucosa gástrica, cáncer gástrico, y, más raramente, tumores malignos de tipo linfoma. Debido a la muy elevada morbilidad y mortalidad del *H. pylori* es de especial preocupación en los países en desarrollo, donde se han reportado prevalencias de *H. pylori* de hasta el 90%.

La población de *H. pylori* muestra una alta variabilidad genómica entre las diversas cepas. El polimorfismo de repetición en las unidades genómicas ha participado en el importante proceso de evolución. Una variedad de herramientas de caracterización molecular se han desarrollado para acceder a la caracterización genética de cepas aisladas de *H.pylori*. Sin embargo, existe todavía ningún sistema estándar de determinación del genotipo de esta bacteria.

El método MLVA (Multi-Locus of Variable number of tandem repeat Analysis) es útil para llevar a cabo análisis filogenéticos y se utiliza ampliamente en el procedo de genotipado de bacterias, sin embargo, es escasa su aplicación en análisis de *H. pylori*.

Este artículo describe la primera aplicación del método MLVA para investigar muestras de *H. pylori* aisladas en Rusia. MLVA de cuatro VNTR loci, con alto poder de discriminación basado en 10 candidatos se realizó en una colección de 22 cepas de *H. pylori* procedentes de la región de Rostov de Rusia. Este método proporciona un punto de partida susceptible de mejora y comparacion con otras tecnicas.

PALABRAS CLAVE: *Helicobacter pylori*. Genotipado VNTR. Analisis de cluster.

INTRODUCTION

H. pylori isolates obtained from different individuals and ethnic groups in the world exhibit substantial genomic diversity due to synonymous substitutions, insertion-deletion (indel)polymorphisms, and mobility of repetitive elements. This diversity could be further enhanced by chromosomal rearrangements due to a high level of interstrain recombination. Geographical partitioning of the gene pool exists within *H. pylori*, and sequences are less related between isolates from different populations than between isolates from families¹.

Several molecular typing tools were tried for strain typing and identification of *H. pylori* isolates. These include pulsed-field gel electrophoresis², random fragment length polymorphism³, randomly amplified polymorphic DNA⁴, ⁵, amplified fragment length polymorphism^{6,7}, and PCR-based genotyping of

repetitive sequences, namely, repetitive extragenic palindromes^{8,9} and enterobacterial repetitive intergenic consensus elements¹⁰.

All these techniques indicate that the *H. pylori* population genetic structure is panmictic, and a high level of DNA diversity is found within strains. However, all of these methods suffer from one or more significant drawbacks, including insufficient discriminatory power, poor reproducibility between laboratories, and difficulties with the comparison and accumulation of results by different laboratories.

As an alternative to the above methods, investigation of Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) has been described for various organisms. These include *Salmonella enterica*¹¹, *Staphylococcus aureus*¹², *Yersinia pestis*¹³, *Mycobacterium tuberculosis*¹⁴, *Francisella tularensis*¹⁵ and others.

VNTR are repeated DNA sequences of varying copy number. They are caused by slipped strand mispairing during DNA replication^{16,17}. VNTRs can provide information relating to both the evolutionary and functional areas of bacterial diversity¹⁶. The ability to detect VNTRs in microorganisms has been greatly enhanced by the availability of whole genomic sequences and software that can search for VNTR loci from these sequences¹⁸. Once these polymorphisms are located, flanking primers can then be designed to amplify these variable length regions thus allowing differentiation of copy numbers using the size of the resultant amplicon. This can be done using standard agarose gel electrophoresis and if a higher resolution is required, polyacrylamide gel electrophoresis.

VNTR is therefore applicable to a wide range of laboratories, including those which may have simple equipment such as thermal cyclers and agarose/ polyacrylamide gel electrophoresis but do not have access to sophisticated equipment such as DNA sequencers.

Furthermore when VNTR is applied to multiple loci as a typing scheme such as in Multiple Locus VNTR Analysis (MLVA) greater discriminatory power and more accurate determination of genetic relatedness is achieved^{13,15,19,20}.

In this paper, we report on the development of a MLVA scheme using novel VNTR loci selected from the sequences of a published *H. pylori* genome and evaluate its usefulness as a typing method using reference strain and clinical isolates from Rostov region of Russia.

MATERIAL AND METHODS

Bacterial strains and DNA isolation.

Reference strain *H. pylori* NCTC 11637(Russia) was used in this study. Twenty-two *H. pylori* isolates were recovered from antral gastric biopsies of patients. For culture, biopsy samples were homogenized and inoculated onto Trypticase soy agar plates supplemented with 7.5% sheep blood. Cultures were identified by urease, catalase, and oxidase tests and Gram staining. Genomic DNA was extracted from bacterial isolates using a QIAamp DNAMini Kit (Qiagen), according to the manufacturer's instructions. DNA was eluted in 200 µL of elution buffer and 5 µL of each DNA solution was used in the PCR.

VNTR primer design.

DNA sequences of three *H. pylori* strains (26695, J99 and G27) deposited in GenBank under accession numbers, NC000915, NC000921 and NC011333 were used to detect the VNTR loci. Analysis using the Tandem Repeat Finder (TRF) program <http://tandem.bu.edu/>¹⁸ was used to identify potential VNTR loci. Primer Premier 5.0 (Premier Biosoft) was used to design PCR primers for amplifying the loci. Primers were designed within the flanking regions, with a theoretical melting temperature of 57°C to 60°C.

VNTR PCR amplification.

A PCR reaction mixture (30 µL) containing 5 µL of DNA template, 10 pmol of each primer, 1 unit of Taq DNA polymerase, 200 µM of dNTPs and 10 x PCR buffer (500 mM KCl, 100 mM TrisHCl (pH 8.3) 25 mM MgCl₂) was utilized. Amplification was carried out in a DNA thermocycler Tercyc (DNA-Technology, Russia) with denaturation at 94°C for 5min, followed by 30 cycles of denaturation at 94°C for 45 s, annealing at 58°C for 45 s and elongation at 72°C for 1 min.

A 5-min elongation at 72°C was performed after the last cycle to ensure complete extension of the amplicons. Each PCR product (5 µL) was resolved by 5-8% polyacrylamide gel electrophoresis with 1X

TBE (90 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8). Allelic sizes were estimated using a pBlueScript DNA / MspI (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania) as a size marker. Gels were visualised using UV transillumination and the images captured using the ChemiDoc XRS System (BioRad).

DNA sequence analysis.

The PCR products from reference strain were sequenced using the same primers used to amplify the products. Sequencing reactions were performed using the BigDye terminator technology according to the manufacturer's recommendation (Applied Biosystems), and products were analyzed in an ABI 3130 capillary electrophoresis system equipped with the POP 4 matrix (Applied Biosystems). Data obtained with forward and reverse sequencing primers were combined, and sequences were manually aligned.

Data Analysis.

Using the Quantity One 1D Analysis software package (BioRad), the polyacrylamide gel images were analysed and allelic sizes estimated. Allelic sizes were then converted into repeat copy numbers using the formula: Number of Repeats (bp) = [Fragment size (bp) - Flanking regions (bp)] / Repeat size (bp). The repeat copy numbers were then rounded down to form whole numbers. When repeat numbers were less than one, they were rounded down to zero, whilst no amplification was represented by the number ninety-nine. This created a numerical profile which was analysed as a character dataset using Statistica software package version 6.0. Clustering analysis was done using the categorical parameter and the Ward coefficient. Nei's Diversity Index of the VNTR loci was calculated from the range of alleles generated from the strains used utilising the formula;

$$D = 1 - \sum (\text{allele frequency})^2 \text{ (Weir, 1990}^{21}\text{)}.$$

RESULTS AND DISCUSSION

Earlier, we have described a MLVA typing scheme based on 3 VNTR loci for differentiation of *H. pylori* clinical isolates²². The disadvantage of previous scheme was inability to detect any amplicons for several *H. pylori* strains.

The repeat sequence of loci from 7 to 12 bp and consistency of repeat unit $\geq 90\%$ were selected for this research to apply polyacrylamide gel electrophoresis for more accurate determination of bands size. In this study, 10 VNTR loci were candidated from the *H. pylori* database.

And we finally identified 4 VNTR highly polymorphic loci and designed primers for their detection (Table 1).

Table 1: PCR primers used in Study

Primer name	Direction	Sequence (5'-3')
HpA	Forward	TGGGGAACAAAACGAAGTTAAAAGG
	Reverse	TCTTATTGCGCCCATTTTCCAACG
HpD	Forward	CGTTTCTATCAACGCCCCCTATTTC
	Reverse	AAAAGGCGAAATACTGGGATAGCTT
HpE	Forward	ACCGCTCAAATCCCACCAACC
	Reverse	ATGATGCTATAATCACTAATCACT
HpF	Forward	GGTAATATTCATATTGCTTTTTGCGCG
	Reverse	AGATCGTTAAGATTTTGGACGCTTTC

The remaining 6 loci either failed to amplify any DNA or were amplified but were monomorphic. The main characteristics of the 4 VNTR loci are listed in Table 2, including the diversity index of each locus.

Table 2: Characteristic of the 4 VNTR loci

Loci	Repeat	Repeat size(bp)	No.of alleles	Diversity(D)
HpA	TTTTGATGA	9	6	0.76
HpD	AAATACAT	8	15	0.92
HpE	TAATCAC	7	9	0.88
HpF	AATTCTGTGTTT	12	6	0.57

Clustering analysis revealed two major clusters and allowed to obtain 24 individual genotypes, including reference strain and predicted data for *H. pylori* J99 (data not shown). In addition, we tested possibility to detect VNTRs directly in biopsies and observed positive results in 10 from 15 samples studied.

This preliminary investigation validates a first set of markers for MLVA investigation of *H. pylori* clinical isolates. The loci used in this study provided high discriminatory power and successfully separated closely related isolates of different strains from Rostov region of Russia.

The limitation of the most MLVA assays described is the use of agarose gel electrophoresis to separate fragments for allelic sizing, due to inherent inaccuracies of this method to size bands of close molecular weights. So, we used polyacrylamide gel electrophoresis to receive a higher resolution and accurate determination of repeats number.

In contrast with other genotyping methods, the relatively low cost and moderate expertise required for

MLVA typing would allow the systematic typing of any new isolate directly by clinical laboratories. All markers proposed here are easy to type with no sophisticated equipment and software.

The usefulness of the MLVA typing scheme proposed here must be further determined by investigating a larger population of isolates from Russia and other countries.

Further improvements need to be made to the method so that MLVA can be applied directly to biological (biopsies, faeces) and environmental samples, thus avoiding culturing of the pathogen. This would allow epidemiological studies in developing countries where it is not always possible to culture *H. pylori*.

REFERENCES

- 1.- Achtman M, Azuma T, Berg DE, Ito Y, Morelli G, Pan ZJ, Suerbaum S, Thompson SA, van der Ende A, van Doorn LJ. Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Mol Microbiol.* 1999; 32:459-470.
- 2.- Takami S, Hayashi T, Akashi H, Shimoyama T, Tamura T. Genetic heterogeneity of *Helicobacter pylori* by pulse-field gel electrophoresis and re-evaluation of DNA homology. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1994; Suppl.1:S53-S60.
- 3.- Salaun L, Audibert C, Le Ley G, Burucoa C, Fauchere JL, Picard B. Panmictic structure of *Helicobacter pylori* demonstrated by the comparative study of six genetic markers. *FEMS Microbiol Lett.* 1998;161:231-239.
- 4.- Owen RJ, Bickley J, Costas M, Morgan DR. Genomic variation in *Helicobacter pylori*: application for identification of strains. *J Gastroenterol.* 1991;181:43-50.
- 5.- Akopyantz N, Bukanov NO, Westblom TU, Kresovich S, Berg DE. DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based RAPD fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 1992; 20:5137-5142.
- 6.- Gibson JR, Slater E, Xerry J, Tompkins DS, Owen RJ. Use of an amplified-fragment length polymorphism technique to fingerprint and differentiate isolates of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 1998;36:2580-2585.
- 7.- Ahmed N, Khan AA, Alvi A, Tiwari S, Jyothirmayee CS, Kauser F, Ali M, Habibullah CM. Genomic analysis of *Helicobacter pylori* from Andhra Pradesh, South India: molecular evidence for three major genetic clusters. *Curr Sci.* 2003;85:1579-1586.
- 8.- Miehle S, Thomas R, Guiterrez O, Graham DY, Go MF. DNA fingerprinting of single colonies of *Helicobacter pylori* from gastric cancer patients suggests infection with a single predominant strain. *J. Clin. Microbiol.* 1999;37:245-247.
- 9.- van Doorn NE, Namavar F, van Doorn LJ, Durrani Z, Kuipers EJ, Vandenbroucke-Grauls CM. Analysis of *vacA*, *cagA*, and IS605 genotypes and those determined by PCR amplification of DNA between repetitive sequences of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with nonulcer dyspepsia or mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *J Clin Microbiol.* 1999;37:2348-2349.
- 10.- Thoreson AC, Hosseini N, Svennerholm AM, Bölin I. Different *Helicobacter pylori* strains colonize the antral and duodenal mucosa of duodenal ulcer patients. *Helicobacter* 2000;5:69-78.
- 11.- Ramière V, Houssu P, Hernandez E, Denoëud F, Hilaire V, Lisanti O, Ramière F, Cavallo JD, Vergnaud G. Variable Number of Tandem Repeats in *Salmonella enterica subsp. enterica* for Typing Purposes. *J Clin Microbiol* 2004, 42:5722-5730.
- 12.- Sabat A, Krzyszton-Russjan J, Strzalka W, Filipek R, Kosowska K, Hryniewicz W, Travis J, Potempa J. New method for typing *Staphylococcus aureus* strains: multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of polymorphism and genetic relationships of clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2003, 41:1801-1804.

- 13.- Adair DM, Worsham PL, Hill KK, Klevytska AM, Jackson PJ, Friedlander AM, Keim P: Diversity in a variable-number tandem repeat from *Yersinia pestis*. J Clin Microbiol 2000, 38:1516-1519.
- 14.- Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiology 1998, 144 (Pt 5):1189-1196.
- 15.- Farlow J, Smith KL, Wong J, Abrams M, Lytle M, Keim P: *Francisella tularensis* strain typing using multiple-locus, variable-number tandem repeat analysis. J Clin Microbiol 2001;39:3186-3192.
- 16.- van Belkum A, Scherer S, van Alphen L, Verbrugh H. Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. Microbiol Mol Biol Rev 1998, 62:275-293.
- 17.- Bzymek M, Lovett ST. Instability of repetitive DNA sequences: the role of replication in multiple mechanisms. Proc Natl Acad Sci USA. 2001, 98:8319-8325.
- 18.- Benson G. Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. Nucleic Acids Res 1999; 27:573-580.
- 19.- Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, Jackson PJ, Hugh-Jones ME. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. J Bacteriol 2000; 182:2928-2936.
- 20.- Klevytska AM, Price LB, Schupp JM, Worsham PL, Wong J, Keim P. Identification and characterization of variable-number tandem repeats in the *Yersinia pestis* genome. J Clin Microbiol 2001, 39:3179-3185.
- 21.- Weir BS. Genetic data analysis: methods for discrete population genetic data analysis. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Mass. 1990.
- 22.- Sorokin V, Pisanov R, Vodopyanov A. VNTR-genotyping analysis of *Helicobacter pylori* clinical isolates. Zdravoohranenie RF 2011; 5:45-46.

CORRESPONDENCE:

Vladimir M. Sorokin
Rostov-on-Don Institute for Plague Research,
344007, M. Gorkogo 117,
Rostov-on-Don
Russia
Mail:[soroka53 @ mail.ru](mailto:soroka53@mail.ru)

Comment of the reviewer Prof. Dr. José María Eirós Bouza MD, PhD. Catedrático de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid. Valladolid. España.

H. pylori infections cause very high morbidity and mortality and are of particular concern in developing countries, whose importance need not be emphasized.

In the present paper Sorokin et al first described the MLVA method to investigate *H. pylori* isolates in Russia. As noteworthy contributions MLVA of 4 VNTR loci with high discrimination power based on 10 candidates were performed on a collection of 22 strains of *H. pylori* which originated from Rostov Region.

This method provides a starting point on which improvements to the method and comparisons to other techniques can be made. Further improvements need to be made to the method so that MLVA can be applied directly to biological and environmental samples, thus avoiding culturing of the bacteria.

Comment of the reviewer Dra. María Ángeles Mantecón, PhD. Department of Microbiology. Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

H. pylori infection is common in humans. Clinical manifestations range from asymptomatic infection, peptic ulcer, gastritis or gastric cancer. The bacterium is characterized by high genetic diversity. This fact has a major role in its pathogenesis and virulence.

Sorokin et al present in this paper the first results in the typing of H. pylori by molecular technique MELVA. The aspects to be highlighted in this paper are the high power of discrimination obtained and future applications in the detection of the organism in biological samples as well as a better understanding of the epidemiology of the circulating strains of H. pylori. Another advantage to be considered is the ease of implementation and low cost of the technique studied.

Received, December 18, 2012

Published, December 31, 2012



ISSN: 1697-090X

[Inicio Home](#)

[Indice del
volumen Volume
index](#)

[Comité Editorial
Editorial Board](#)

[Comité Científico
Scientific
Committee](#)

[Normas para los
autores
Instruction to
Authors](#)

[Derechos de autor
Copyright](#)

[Contacto/Contact:
!\[\]\(870f5d5e9c0d57485634be3ecf52f3ca_img.jpg\)](#)

AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN GESTANTE: IMAGEN EN CELLAVISION DM8

Beatriz Cuevas-Ruiz, Pilar de Vicente

**Servicio de Hematología-Hemoterapia.
Hospital Universitario de Burgos.
Burgos. España**

[bcuevas @ hubu.es](mailto:bcuevas@hubu.es)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:40-44.

RESUMEN:

La Enfermedad de von Willebrand (EVW) agrupa diferentes variedades dependiendo de la alteración cualitativa o cuantitativa del Factor von Willebrand.

El diagnóstico se basa en una historia clínica de sintomatología hemorrágica y un estudio analítico concordante. El subtipo 2B puede cursar con agregación plaquetaria en determinadas situaciones como infusión de DDAVP, con el ejercicio o la cirugía y en la gestación.

Presentamos el caso de una paciente con agregación plaquetaria en la gestación y EVW tipo 2B.

PALABRAS CLAVE: Agregación plaquetaria. Gestación. Von Willebrand

SUMMARY: PLATELET AGGREGATION IN PREGNANCY.

Von Willebrand Disease (VWD) groups different varieties depending on the qualitative or quantitative alteration of von Willebrand Factor.

The diagnosis is based on a medical history of bleeding symptoms and a consistent analytical study. 2B subtype may occur with platelet aggregation in certain situations as DDAVP infusion, with exercise or surgery and pregnancy.

We report a patient with platelet aggregation in pregnancy and type 2B VWD.

KEYWORDS: Platelet aggregation. Gestation. Von Willebrand

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de von Willebrand (EVW) es una diátesis hemorrágica congénita causada por una anomalía cualitativa o cuantitativa del factor von Willebrand (FVW), que se transmite con carácter autosómico dominante o con menos frecuencia recesivo¹.

Originalmente en 1926 y posteriormente en 1931 y 1933 von Willebrand y sus colaboradores describieron las características de la diátesis hemorrágica que afectaba a una familia, estableciéndose el síndrome clínico conocido como enfermedad de von Willebrand².

La EVW agrupa diferentes variedades dependiendo de la alteración cualitativa o cuantitativa del FVW en el plasma y plaquetas³.

El diagnóstico se basa en una historia clínica de sintomatología hemorrágica tanto familiar como personal junto con el estudio analítico. Las manifestaciones clínicas oscilan desde hemorragias leves a severas tras traumatismos o intervenciones quirúrgicas, existiendo una gran variación en la severidad de los síntomas incluso en el seno de una misma familia⁴.

Describimos el caso de una paciente con EVW que presentó una agregación espontánea plaquetaria coincidiendo con la gestación.

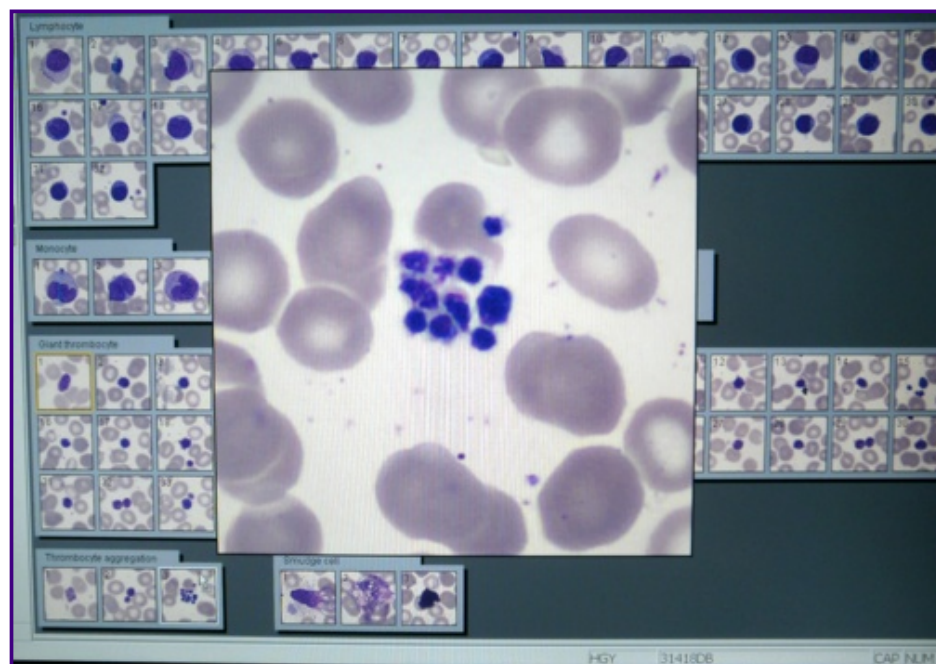
CASO CLÍNICO

Paciente de 29 años de nacionalidad rumana enviada a la consulta externa de Hematología para estudio de diátesis hemorrágica. Refería que había sido diagnosticada en Rumanía de enfermedad de von Willebrand pero no aportaba informes.

La paciente fue remitida desde la consulta externa de Obstetricia dado que estaba embarazada (1ª gestación); en el momento de ser vista por Hematología se encontraba en la 20 semana de gestación y como antecedentes, refería sangrados ocasionales ante pequeños traumatismos y no había sido sometida a ninguna intervención quirúrgica; desconocía la existencia de antecedentes familiares de enfermedad hemorrágica.

Se solicitó el estudio para el diagnóstico de enfermedad de von Willebrand que arrojó resultados analíticos no concluyentes (cifra de plaquetas normales y valores FVW: AG: 113%, FVW:RCO: 79%), por lo que se sospechó la existencia de una enfermedad de VW tipo I ante la escasa expresividad clínica; no se realizó la prueba de estimulación con desmopresina dado que estaba embarazada.

Posteriormente en un hemograma solicitado por el servicio de Obstetricia en la semana 32, se detectó una cifra de plaquetas de 9×10^9 , sin manifestaciones de sangrado, realizándose un frotis objetivándose numerosos agregados plaquetarios. Figuras 1, 2 y 3.





Figuras 1 y 2.- Imagen ofrecida por el analizador celular CellaVision® DM8

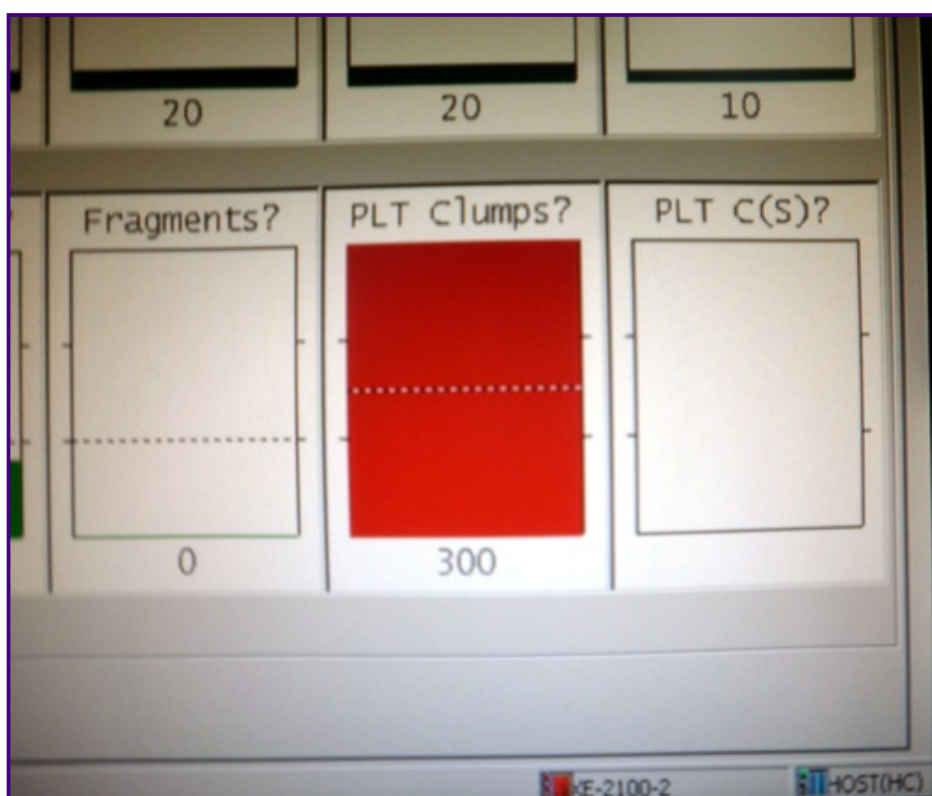


Figura 3.- Plaquetas Clumps en la pantalla de investigación de Sysmex XE-2100 (apartado de agregación plaquetaria).

Ante este hallazgo se sospechó la posibilidad de que se tratara de una EVW tipo 2B, siendo el estudio diferido hasta después del parto que se produjo por vía vaginal; no obstante, la paciente recibió acetato de desmopresina (DDAVP), no presentando una hemorragia excesiva aunque en ese momento la cifra de plaquetas era de 11×10^9 plaquetas.

Nació un varón que presentó al nacer una cifra de 14×10^9 plaquetas, haciendo sospechar que el hijo también estaba afectado de una enfermedad de von Willebrand tipo 2B dado que en este tipo la herencia es autosómica dominante.

En el estudio efectuado en nuestro Centro de Referencia, se objetivaron los siguientes valores FVW: AG: 35%, FVW:RCO: 7%,

FVW:CB: 6.4%, con un estudio genético que confirmó la sospecha clínica: FVW: exón 28-R1306W (3916C>T)

DISCUSIÓN

La enfermedad de von Willebrand es la diátesis hemorrágica hereditaria más común con una prevalencia estimada del 1-2%.

El tipo 2 presenta anomalías cualitativas y comprende el 20-30% de todas las EVW. El subtipo 2B supone el 20% de todos los tipos 2 y está causada por un factor von Willebrand anormal con afinidad incrementada por el receptor plaquetario, la glicoproteína Ib- α , debido a la ganancia de mutaciones funcionales en el dominio A1 del FVW; como consecuencia se produce la desaparición de los multímeros de alto peso molecular del FVW del plasma debido a su espontánea unión a la GPIb de las plaquetas⁵.

Esto condiciona el aclaramiento de ambos, del FVW y de las plaquetas, pudiendo desencadenar este fenómeno una trombopenia moderada o severa⁶.

La trombopenia puede ser persistente o transitoria pero empeora con frecuencia con la infusión de DDAVP, con el ejercicio o la cirugía y en la gestación.

Nuestra paciente presentaba una cifra de plaquetas normales cuando acudió a la consulta externa de Hematología, descendiendo la cifra de plaquetas hasta las 9×10^9 , 10 días antes del parto. Posteriormente, la cifra de plaquetas se normalizó al mes del parto.

En estos pacientes las plaquetas pueden tener un tamaño ligeramente aumentado por lo que en pacientes con trombopenia y plaquetas gigantes, debe descartarse siempre una EVW⁷.

El parto vaginal es generalmente seguro pero la incidencia de hemorragia posparto es del 30%. Por ello, Güth y cols. recomiendan el tratamiento con concentrados de factor VIII-FVW al iniciar el parto y en el postparto⁸. El gen del factor VW está localizado en el brazo corto del cromosoma 12, precisándose el estudio genético para confirmar el fenotipo. Este análisis molecular es necesario para obtener el diagnóstico definitivo y clasificar el subtipo en las variantes cualitativas, esto es, en los tipos 2A, 2B, 2M y 2N requiriendo el escrutinio de mutaciones comunes en las regiones específicas del FVW⁹.

REFERENCIAS

- 1 - Holmberg L, Nilsson IM. von Willebrand's disease. Eur J Haematol 1992; 48: 127-141.
- 2.- MacFarlane JC, Simpkins MJ. The investigation of a large family affected with Von Willebrand's disease. Arch Dis Child 1954; 29: 483-487.
- 3.- Sadler JE. A revised classification of von Willebrand disease. For the Subcommittee on von Willebrand Factor of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Thromb Haemost 1994; 71: 520-525.
- 4.- Nichols WC, Ginsburg D. Reviews in molecular medicine: Von Willebrand disease. Medicine 1997;76: 1-20.
- 5.- Casanoto A, Gallinaro L, Cattini MG et al. Reduced survival of type 2B von Willebrand factor, irrespective of large multimer representation or thrombocytopenia. Haematologica 2010; 95: 1366- 1372.
- 6.- Federici AB, Mannucci PM, Castaman G, Baronciani L, Bucciarelli P, Canciani MT, Pecci A, Lenting PJ, De Groot PG. Clinical and molecular predictors of thrombocytopenia and risk of bleeding in patients with von Willebrand disease type 2B: a cohort study of 67 patients. Blood 2009; 113: 526-534.
- 7.- Loffredo G, Baronciani L, Noris P, Menna F, Federici AB, Balduini CL. von Willebrand disease type 2B must be always considered in the differential diagnosis of genetic thrombocytopenias with giant platelets. Platelets 2006; 17: 149-152.
- 8.- Güth U, Tsakiris DA, Reber A, Holzgreve W, Hösli I. Management of patients with Type 2B von Willebrand's disease during delivery and puerperium. Z Geburtshilfe Neonatol 2002; 206: 151-155.
- 9.- Keeney S, Bowen D, Cumming A, Enayat S, Goodeve A, Hill M. (UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation (UKHCDO). The molecular analysis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation Haemophilia Genetics Laboratory Network. Haemophilia 2008; 14: 1099-1111.

CORRESPONDENCIA:

Beatriz Cuevas Ruiz MD. PhD.



Servicio de Hematología y Hemoterapia del Complejo Asistencial Universitario de Burgos
Hospital Universitario de Burgos
Avda. Islas Baleares, 3.
09006 Burgos. España
Mail: [bcuevas @ hubu.es](mailto:bcuevas@hubu.es)

Recibido, 23 de diciembre de 2012
Publicado, 31 de diciembre de 2012



ISSN: 1697-090X

Inicio
Home

Indice del
volumen
Volume index

Comité Editorial
Editorial Board

Comité Científico
Scientific
Committee

Normas para los
autores
Instruction to
Authors

Derechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



CITOMETRÍA DE FLUJO: FUNDAMENTO, INSTRUMENTACIÓN Y APLICACIONES EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Gabriel Alberto March Rosselló¹, José María Eiros Bouza ²

¹Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

²Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid
España.

gmr810@hotmail.com

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:45-53.

Comentario del revisor Prof. Pilar Codoñer Franch MD. PhD. Profesora Titular del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia. Sección de Nutrición, Gastroenterología y Hepatología Pediátrica. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia. España. España.

Comentario del revisor Comentario del revisor Pilar Vicente MD. PhD. Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

RESUMEN:

La citometría de flujo (CMF) es una técnica que permite el análisis óptico e individual de diferentes partículas y puede aportar resultados en unos pocos minutos tras la realización de las determinaciones. Son numerosas las aplicaciones de esta técnica a la Microbiología Clínica, que van desde la detección y cuantificación de microorganismos hasta estudios en los que se evalúan diferentes parámetros de la célula microbiana, como por ejemplo pruebas tan importantes como la determinación de la susceptibilidad a los agentes quimioterápicos.

En este trabajo se pretende revisar el fundamento y la instrumentación de la CMF incluyendo el analizador de orinas Sysmex UF-1000i (Sysmex Corporation, Kobe, Japón), y las principales aplicaciones de esta técnica en Microbiología Clínica. Palabras clave:

PALABRAS CLAVE:Citometría de flujo. Microbiología clínica. Sysmex UF-1000i

SUMMARY: FLOW CYTOMETRY: BASIS, INSTRUMENTATION AND APPLICATIONS IN CLINICAL MICROBIOLOGY.

Flow cytometry is a technique that allows individual optical analysis of different particles and can provide results in a few minutes after the completion of the determinations. There are many applications of this technique to the

Clinical Microbiology, ranging from the detection and quantification of microorganisms up to studies that evaluated different microbial cell parameters, as for example tests such as important as the determination of the susceptibility to chemotherapeutic agents.

This paper aims to review the basis and instrumentation of the flow cytometry including UF-1000i Sysmex urine analyzer (Sysmex Corporation, Kobe, Japan), and the main applications of this technique in Clinical Microbiology.

KEYWORDS: Flow cytometry. Clinical microbiology. Sysmex UF-1000i

INTRODUCCIÓN

Una de las principales dificultades que deben superar los laboratorios de Microbiología Clínica respecto a otros laboratorios Clínicos es el dilatado tiempo que se requiere para emitir informes definitivos. Los métodos tradicionales de bacteriología y micología precisan el crecimiento y aislamiento de los microorganismos para poder realizar la identificación, la susceptibilidad a los antimicrobianos u otras pruebas, de tal forma que en muchos casos los resultados están disponibles en 48/72 horas o más.

Con el fin de disminuir el tiempo necesario para llevar a cabo el diagnóstico microbiológico los laboratorios de Microbiología Clínica han sufrido importantes cambios durante los últimos años ya que las infecciones graves requieren una terapia dirigida administrada lo más pronto posible, y para ello se debe conocer el agente causal y su susceptibilidad a los antimicrobianos. Entre estos cambios se encuentran la introducción de las técnicas basadas en la detección de antígenos y anticuerpos específicos¹, las técnicas de detección molecular como el Septifast², las de proteómica representada por el sistema MALDI-TOF³, y la citometría de flujo⁴.

Todas estas técnicas tienen la característica común de que pueden proporcionar datos sobre la identificación o la sensibilidad de los microorganismos a partir de la muestra directa, sin la necesidad de esperar el cultivo, pudiendo adelantar así los resultados microbiológicos. Esta reducción de tiempo es especialmente útil cuando se refiere a microorganismos que no crecen en medios de cultivo convencionales como *Mycoplasma spp*, microorganismos de crecimiento lento como las micobacterias, o cuando se refiere a pacientes con sepsis que presentan bacteriemia documentada. En este último ámbito la administración adecuada de antibióticos es esencial para su evolución favorable⁵ y cada hora de retraso en el inicio del tratamiento está asociado con una disminución de la supervivencia de casi un 8%⁶.

Otra línea de aplicación práctica es la de poder retrasar la aparición de resistencias bacterianas porque el cambio del tratamiento antimicrobiano empírico de amplio espectro a una terapia dirigida tan pronto como sea posible es una de las pocas medidas que se pueden adoptar habida cuenta de que la investigación en nuevos antibióticos está muy ralentizada en el presente siglo; las dos últimas moléculas que aparecieron en el mercado fueron linezolid en el año 2000 y daptomicina en el año 2003⁷. Para poder realizar este cambio se debe disponer de los datos de susceptibilidad con el menor tiempo posible. Actualmente están disponibles algunos métodos automatizados para la determinación de la sensibilidad bacteriana, de los cuales el sistema VITEK2® (biomérieux, Marcy l'Etoile, Francia) y el sistema Phoenix® (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) son los que proporcionan los resultados más rápidos con un tiempo medio de 9 horas⁸ y, como veremos a continuación, con la citometría de flujo es posible acortar este tiempo.

En este trabajo se pretende revisar la instrumentación de la citometría de flujo (CMF), incluyendo el analizador de orinas Sysmex UF-1000i (Sysmex corporation, Kobe, Japón), y las principales aplicaciones de esta técnica en la Microbiología Clínica.

Instrumentación de la citometría de flujo

La citometría de flujo es un proceso que permite que las partículas (generalmente células) pasen en fila dentro de un flujo a través del aparato con una velocidad de 500-4000 partículas/segundo. Cuando esto sucede, es posible realizar la medición simultánea de múltiples características de una sola célula de tal forma que es posible caracterizar, separar y cuantificar las diferentes subpoblaciones celulares que se engloban en un conjunto⁹.

La clasificación de las células puede basarse en propiedades físico-químicas, inmunológicas y funcionales. Los métodos de clasificación que se basan en propiedades funcionales utilizan características tales como afinidad, adherencia o crecimiento. La clasificación inmunológica se basa en la utilización de anticuerpos dirigidos frente a epítomos celulares.

En la práctica, las características físico-químicas son las más utilizadas para la separación o "sorteo celular"; se incluyen características como tamaño, volumen, densidad, propiedades de dispersión de la luz, potencial de

membrana, pH, carga eléctrica y contenido de diferentes compuestos como ácidos nucleicos, enzimas y otras proteínas¹⁰.

El sistema de citometría de flujo está compuesto por cinco unidades principales: sistema de flujo celular, fuente de luz, unidad de filtros ópticos, detectores y un sistema electrónico que procesa los datos.

A continuación se describe de forma sencilla el funcionamiento del sistema^{4,11}.

El sistema de flujo incorpora un capilar a través del cual se hace pasar un líquido isotónico que actúa a modo de funda, con una velocidad y presión constante generando así un flujo laminar sin turbulencia. Al mismo tiempo, por el centro del capilar se hace pasar la suspensión de partículas a una presión mayor que la del flujo transportador asegurándose así que las células permanecen centradas y viajan una tras otra en el chorro de inyección. De esta forma es posible realizar un análisis individual de las partículas ya que la luz de la fuente emisora incide sobre cada célula a analizar. Este fenómeno recibe el nombre de enfoque hidrodinámico.

La fuente de luz puede ser de dos tipos, un láser o una lámpara de arco. Los citómetros con lámparas de arco tienen más aplicaciones en Microbiología por su mejor resolución de la luz dispersa y los rayos láser en Inmunología y Hematología por su facilidad de excitación de los fluorocromos que se usan para marcar las partículas.

Cuando la luz de la fuente incide perpendicularmente en cada partícula ésta se dispersa hacia delante y hacia los lados. Esta luz se detecta en dos posiciones diferentes, por una parte se detecta la luz dispersa hacia adelante (en inglés "forward scattered light", FSC) y por otra la luz dispersa a un ángulo de 90 grados (en inglés "side scattered light", SSC).

Con el fin de obtener más información las partículas pueden ir marcadas con un fluoróforo que cuando capta la energía de la luz de la fuente emite una señal fluorescente de menor energía que el rayo incidente que se detecta también a un ángulo de 90 grados. Los fluoróforos utilizados pueden clasificarse de acuerdo a su mecanismo de acción (Tabla 1).

Tabla 1. Estrategias empleadas por los diferentes fluoróforos aplicados en citometría de flujo

Mecanismo de acción	Ejemplos
La fluorescencia se incrementa con la unión a componentes específicos	Isotiocianato que se une a proteínas Ioduro de propidio que se une a ácidos nucleicos
La fluorescencia depende de parámetros fisiológicos de la células	Bis-(1,3-dibutilbarbiturato) trimetinaoxonol
La fluorescencia depende de la hidrólisis enzimática de la célula	Diacetato de fluoresceína
Conjugación con anticuerpos o nucleótidos para la detección directa de antígenos microbianos o secuencias de ARN	Péptido marcado con un fluorocromo que se une a las esporas del género <i>Bacillus</i>

Esta luz dispersa atraviesa unos filtros ópticos que seleccionan una longitud de onda específica. La luz filtrada llega a los detectores del tipo fotomultiplicadores que detectan y amplifican la señal la cual se transmite al sistema electrónico que se encarga del procesamiento de los datos. Para ello la luz incidente se transforma en pulsos eléctricos y se generan histogramas generalmente biparamétricos, es decir, gráficas en las que se representan dos parámetros (en inglés "dot plot" o "counter plot"). En estas gráficas, la luz dispersa hacia adelante se relaciona con el tamaño de la partícula y la luz dispersa a un ángulo de 90 grados da una idea de la estructura interna de la partícula proporcionando información sobre la granularidad y morfología celular.

Aplicaciones de la citometría de flujo en Microbiología Clínica

Son numerosos los trabajos en los que se ha demostrado que la CMF es una técnica útil para el estudio de susceptibilidad a los antimicrobianos mediante la observación de los efectos que ejercen estas moléculas sobre ciertos parámetros metabólicos de las bacterias y determinados hongos unicelulares como pueden ser el potencial de membrana, el tamaño celular, cantidad de DNA, actividad enzimática, etc. Ramani y Chaturvedi¹² realizaron un estudio en el que se determinó la susceptibilidad de distintas especies de levaduras a Anfotericina B y Fluconazol.

Para ello pusieron en contacto un inóculo de las mismas con los antifúngicos en disolución a diferentes

concentraciones. Al cabo de unas pocas horas añadieron a estas disoluciones el fluorocromo yoduro de propidio (PI) junto con desoxicolato. El PI es un fluorocromo que se intercala en la doble hebra del ADN, que es excluido en las células viables y sólo tiñe las bacterias con alteraciones en la membrana y por lo tanto con deterioro celular⁴; el uso de desoxicolato intensifica la penetración de PI en el interior de la célula pudiendo obtener así resultados más anticipados¹³.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) por CFM se definió como la mínima concentración de antifúngico que proporcionó un incremento del 50% de la señal de fluorescencia comparada con la señal obtenida a partir de la disolución control (levadura sin antibiótico). Los resultados obtenidos de la susceptibilidad mediante CMF fueron rápidos (6 horas como máximo, dependiendo de la cepa a estudiar), reproducibles y estadísticamente comparables con los obtenidos por el método de macrodilución en caldo que es el método de referencia indicado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Otro trabajo a destacar en la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos mediante CMF es el realizado por Gauthier *et al.*¹⁴ que partieron de muestra directa de orinas positivas para bacterias. Usaron dos fluorocromos, el PI y el bis-(1,3-dibutilbarbiturato) trimetinaoxonol o DiBAC₄³; éste último penetra en las células que presentan la membrana despolarizada y ambos aumentan la señal cuando la célula no es viable. Partieron de 114 muestras de orina y hicieron las mediciones de la señal fluorescente mediante CMF una vez se había incubado, durante dos horas, una alícuota de cada orina en las disoluciones con diferentes antibióticos y sólo obtuvieron un 2% de discrepancias con respecto a los valores de referencia de la susceptibilidad determinados mediante la técnica de microdilución en caldo.

Otro trabajo a destacar es el realizado por Shrestha *et al.*¹⁵ en el que se realizaron histogramas con la representación de la luz dispersa a un ángulo de 90 grados (SSC) frente a la señal de fluorescencia de una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y otra sensible a tiempo cero y a las cuatro horas de incubación en un caldo con este antibiótico y observaron que las cepas resistentes presentan otra dispersión de la luz que las cepas sensibles o resistentes sin exposición al antibiótico; esto hace suponer que aunque el microorganismo sea resistente al antibiótico éste produce un cambio en la morfología celular de la bacteria.

Las pruebas de susceptibilidad cobran una especial importancia cuando se refieren a microorganismos patógenos de crecimiento lento como *Mycobacterium tuberculosis*, pasando de requerir hasta tres semanas con el sistema BACTEC MGIT 960 a poder informar un resultado en 24 horas mediante CMF. Esta información es de gran utilidad para el control de brotes y para la administración correcta de antituberculosos debido a que se ha observado un incremento en el número de aislamientos de las cepas resistentes¹⁶.

En el trabajo realizado por Pina-Vaz *et al.*¹⁷ se consiguió determinar en tres días la susceptibilidad a estreptomycin, isoniazida, rifampicina y etambutol. Para ello *M. tuberculosis* se incubó con los diferentes antituberculosos en el sistema MGIT. Después los microorganismos se tiñeron con el fluorocromo SYTO 16 que sólo penetra en las células con alteración de la membrana celular y, comparando la intensidad de la señal de fluorescencia obtenida a partir de estos microorganismos mediante CMF con microorganismos sin contacto con los antibióticos (grupo control) se pudo diferenciar entre cepas sensibles, intermedias o resistentes obteniendo unos resultados que mostraron una excelente correlación con los obtenidos mediante el sistema BACTEC MGIT 960.

Kirk *et al.*¹⁸ realizaron otro trabajo basándose en la habilidad de la micobacteria para hidrolizar, mediante esterasas, el sustrato diacetato de fluoresceína (FDA) que pasa a fluoresceína, compuesto que emite fluorescencia cuando se excita con luz de longitud de onda adecuada. Si la micobacteria es sensible al antituberculoso se disminuye la capacidad hidrolítica de la micobacteria y por lo tanto también disminuye la señal de fluorescencia detectada. Comparando la señal de fluorescencia y la luz dispersa a 90 grados detectada mediante CMF a partir de micobacterias sin contacto con el antituberculoso con las señales obtenidas a partir de micobacterias con una incubación de tan solo 24 horas con isonizida, etambutol y rifampicina obtuvieron un 95, 92 y 83% de concordancia respectivamente con respecto al antibiograma obtenido mediante el método de las proporciones.

Otra aplicación de la CMF es la cuantificación de bacterias viables pero no cultivables (BVNC); A título de ejemplo Khan *et al.*¹⁹ realizaron un trabajo en el que cuantificaron, mediante CMF, las bacterias vivas, cultivables y no cultivables, y las muertas presentes en un caldo. Para teñir las bacterias usaron dos fluorocromos, uno denominado SYTO que tiñe tanto las vivas como las muertas y el yoduro de propidio (PI) que sólo tiñe las muertas. El número total de células (vivas y muertas) se determinó utilizando el fluorocromo SYTO y el número de bacterias muertas se obtuvo con PI. Las células vivas (cultivables y no cultivables) se calcularon restando al número calculado con SYTO el número calculado con PI. Finalmente el número de bacterias viables pero no cultivables se halló restando al valor de las bacterias vivas el recuento obtenido en placa.

Además la CMF puede utilizarse en la detección y caracterización de esporas de *Bacillus anthracis*. En el trabajo realizado por Schumacher *et al.*²⁰, las esporas de *Bacillus spp.* se marcaron con dos moléculas, un anticuerpo que detecta el antígeno protector (PA) que es un marcador de virulencia específico localizado en la superficie de las esporas de *Bacillus anthracis*, y un péptido marcado con un fluorocromo que se une a las esporas del género *Bacillus*. Estudiando los histogramas obtenidos con la combinación de estas dos señales estos autores consiguieron

discriminar, en unas pocas horas, entre esporas de *B. anthracis* de otras esporas de *Bacillus spp.* y su virulencia.

Por lo tanto, la CMF es una técnica que permite ganar mucho tiempo en la emisión de resultados microbiológicos cuando se presenten casos que requieran una extrema rapidez y, con el desarrollo de nuevos anticuerpos, fluoróforos y sustratos fluorescentes que se unan de forma selectiva a estructuras celulares será posible la identificación y cuantificación de un gran número de estructuras.

Sysmex UF-1000i

Las muestras de orina para urocultivo son unas de las más frecuentemente recibidas y procesadas en los laboratorios de Microbiología Clínica. Dado que entre un 60 a un 80% de muestras proporcionan resultados negativos de crecimiento en placa²¹⁻²², para ganar tiempo en la emisión de informes y poder disminuir la carga de trabajo del personal técnico, en los laboratorios de Microbiología Clínica se puede disponer del analizador automatizado del sedimento urinario Sysmex UF-1000i (Sysmex Corporation, Kobe, Japón) con el que se puede realizar un cribado de las muestras de orina.

Este aparato se basa en la citometría de flujo fluorescente y permite cuantificar analitos tales como bacterias, levaduras, hematíes, leucocitos, células epiteliales, células pequeñas redondas, cilindros, espermatozoides, cristales y moco tiñendo estas partículas con colorantes fluorescentes y analizando posteriormente la impedancia, la dispersión y la fluorescencia. Así, las orinas que proporcionan valores por debajo de unos umbrales de ciertos parámetros determinados por el personal de laboratorio en función de la sensibilidad y especificidad que se pretenda alcanzar pueden ser informadas como negativas en un periodo de tiempo breve tras su recepción sin necesidad de otro tipo de procesamiento.

El equipo Sysmex UF-1000i utiliza 0.8 ml de muestra en modo manual y 1.2 ml en modo automático y puede procesar hasta 100 muestras/hora²³. Debido a que la medida de los leucocitos es el método más fiable para diferenciar una probable colonización o contaminación de una infección urinaria²⁴, el valor de este analito se suele utilizar, aparte del número de bacterias, como parámetro para discriminar entre orinas positivas y negativas. Uno de los avances del Sysmex UF1-000i respecto a su anterior modelo, el UF-500i (Sysmex Corporation, Kobe, Japón), es que posee dos canales, uno para el análisis del sedimento y otro exclusivo para las bacterias²⁵. De esta forma se mejora el recuento de microorganismos y se evita la interferencia de los hematíes con las bacterias pudiéndose eliminar el recuento de los hematíes como parámetro para discriminar entre orinas positivas y negativas.

Para realizar el análisis cuantitativo de las bacterias se utilizan microesferas o micropartículas que llevan un marcaje fluorescente como estándares de calibración y se comparan las señales de estos calibradores con las de la muestra¹⁹; el fluorocromo utilizado es tinte polimetina que tiñe tanto las bacterias vivas como las muertas²⁶. Este aparato también permite discriminar entre cocos y bacilos en una infección monomicrobiana mediante el histograma en el que se representa la luz dispersa hacia delante en función de la señal de fluorescencia²³.

El "*gold standard*" del diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario (ITU) se fundamenta en la lectura e interpretación de las colonias que se forman en medios de cultivo. En función de los criterios de interpretación de las placas que se adopten en cada laboratorio se establecen los puntos de corte óptimos de los diferentes parámetros usados en el sistema Sysmex UF-1000i para discriminar entre orinas positivas y negativas; estos valores condicionan las características operacionales de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del equipo tal como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Características operacionales de diferentes estudios que utilizan el sistema Sysmex UF-1000i para el cribado de orinas

Autores	Recuento indicativo de ITU	Puntos de corte Sysmex UF-1000i	Características operacionales
De Rosa <i>et al.</i> (18)	$\geq 1 \cdot 10^4$ UFC/ml	$1.7 \cdot 10^5$ bacterias/ml $1.5 \cdot 10^5$ leucocitos/ml	S=98.8%; E=76.5%; VPN=99.5%; FN=1.2%
Broeren <i>et al.</i> (21)	$\geq 1 \cdot 10^5$ UFC/ml	$2.3 \cdot 10^5$ bacterias/ml	S=95%; E=80%
Piertti <i>et al.</i> (22)	$\geq 1 \cdot 10^4$ UFC/ml	$6.5 \cdot 10^4$ bacterias/ml 100 leucocitos/ml	S=98.2%; E=62.1%; VPN=98.7%
Kadkhoda <i>et al.</i> (23)	$\geq 1 \cdot 10^4$ UFC/ml para uropatógenos $\geq 1 \cdot 10^5$ UFC/ml para no uropatógenos	$2.3 \cdot 10^4$ bacterias/ml	S=92.6%
Manoni <i>et al.</i> (19)	$\geq 1 \cdot 10^5$ UFC/ml	$1.25 \cdot 10^5$ bacterias/ml $4 \cdot 10^5$ leucocitos/ml	S=99%; E=77%; VPP=82%; VPN=98%
Wang <i>et al.</i> (20)	$\geq 1 \cdot 10^5$ UFC/ml para gramnegativos $\geq 1 \cdot 10^4$ UFC/ml para grampositivos	$1 \cdot 10^5$ bacterias/ml $5.6 \cdot 10^4$ leucocitos/ml	S=86%; E=95%; VPP=91%; VPN=94%

Para una prueba de cribado lo que interesa es que la técnica tenga elevada sensibilidad y elevado valor predictivo negativo con el fin de minimizar el número de falsos negativos (FN). Por otra parte, los falsos positivos obtenidos pueden ser debidos a la presencia de bacterias muertas debido a la toma de antibióticos antes de la recogida de la muestra de orina, a la presencia de bacterias viables pero no cultivables, o a un arrastre de bacterias desde una muestra muy positiva a una negativa. Broeren *et al.*²⁷ consiguieron reducir los cultivos de las orinas en un 52%, Piertti *et al.*²⁸ un 43% y Kadkhoda *et al.*²⁹ un 35% respectivamente.

Para la optimización del Sysmex UF-1000i se deberían establecer los puntos de corte en función de la edad del paciente, del sexo y del tipo de muestra de orina ya que, según como indica la Sociedad Española de Microbiología Clínica, en varones en los que la obtención de orina es menos susceptible de contaminarse son significativos los recuentos $\geq 1 \times 10^3$ UFC/ml, en orinas obtenidas por punción suprapúbica o que proceden del riñón cualquier recuento es indicativo de infección y en orinas obtenidas por sondaje vesical se consideran significativos recuentos $\geq 1 \times 10^3$ UFC/ml de cualquier microorganismo en cultivo puro³⁰.

Un trabajo a destacar realizado con el Sysmex UF-1000i es el llevado a cabo por Broeren *et al.*³¹, con un título muy sugerente: *Antimicrobial susceptibility testing in 90 min by bacterial cell count monitoring*. En este trabajo se dispuso de una concentración inicial bacteriana entre 5×10^4 y 2×10^5 bacterias/ml calculada mediante el Sysmex UF-1000i en diferentes disoluciones de caldo de enriquecimiento con concentraciones crecientes de antibióticos equivalentes a las que se emplean para determinar la CMI por microdilución en los métodos estandarizados. Se ensayaron los microorganismos *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* y los antibióticos amoxicilina, gentamicina y piperacilina. Se efectuó la medición del número de bacterias de cada disolución de antibiótico a diferentes tiempos: 60, 90, 120, 180 y 240 minutos. También prepararon un control positivo y un control negativo.

La CMI por citometría de flujo se definió como la mínima concentración de antibiótico que proporcionó una reducción del 80% del número de bacterias cuando se comparó con el control positivo después de 240 minutos. La susceptibilidad obtenida mediante citometría de flujo concordó con el 100% de las susceptibilidades obtenidas mediante los sistemas VITEK, Etest y Macrodilución en caldo.

REFERENCIAS

1. Kumar A, Congeni BL, Nankervis GA. Latex agglutination test for rapid detection of bacterial antigens in body fluids. *Ann Clin Lab Sci.* 1980;10:377-382.
2. Grif K, Fille M, Wurzner R, Weiss G, Lorenz I, Gruber G, *et al.* Rapid detection of bloodstream pathogens by real-time PCR in patients with sepsis. *Wien Klin Wochenschr.* 2012;124:266-270.

3. March GA, Eiros JM. Impacto de la metodología MALDI-TOF en la identificación clínica de agentes infecciosos. *Electron J Biomed* (revista electrónica) 2012;1:60-65. Disponible en: <http://biomed.uninet.edu/2012/n1/march.html>.
4. Alvarez-Barrientos A, Arroyo J, Canton R, Nombela C, Sanchez-Perez M. Applications of flow cytometry to clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13:167-195.
5. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, *et al*. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009;136:1237-1248.
6. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, *et al*. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006;34:1589-1596.
7. Infectious Disease Society of America. Bad bugs, no drugs. As antibiotic discovery stagnates, a public health crisis brews. White paper. Alexandria: Infectious Disease Society of America, 2004; 1-35.
8. Eigner U, Schmid A, Wild U, Bertsch D, Fahr AM. Analysis of the comparative workflow and performance characteristics of the VITEK 2 and Phoenix systems. *J Clin Microbiol*. 2005;43:3829-3834.
9. Parks DR, Herzenberg LA. Fluorescence-activated cell sorting: theory, experimental optimization, and applications in lymphoid cell biology. *Methods Enzymol*. 1984;108:197-241.
10. Orfao A, Ruiz-Arguelles A. General concepts about cell sorting techniques. *Clin Biochem*. 1996;29:5-9.
11. Bonner WA, Hulett HR, Sweet RG, Herzenberg LA. Fluorescence activated cell sorting. *Rev Sci Instrum*. 1972;43:404-409.
12. Ramani R, Chaturvedi V. Flow cytometry antifungal susceptibility testing of pathogenic yeasts other than *Candida albicans* and comparison with the NCCLS broth microdilution test. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44:2752-2758.
13. Green L, Petersen B, Steimel L, Haeber P, Current W. Rapid determination of antifungal activity by flow cytometry. *J Clin Microbiol*. 1994;32:1088-1091.
14. Gauthier C, St-Pierre Y, Villemur R. Rapid antimicrobial susceptibility testing of urinary tract isolates and samples by flow cytometry. *J Med Microbiol*. 2002;51:192-200.
15. Shrestha NK, Scalera NM, Wilson DA, Procop GW. Rapid differentiation of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* by flow cytometry after brief antibiotic exposure. *J Clin Microbiol*. 2011;49:2116-2120.
16. Dye C, Scheele S, Dolin P, Pathania V, Raviglione MC. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA*. 1999;282:677-686.
17. Pina-Vaz C, Costa-de-Oliveira S, Rodrigues AG. Safe susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* by flow cytometry with the fluorescent nucleic acid stain SYTO 16. *J Med Microbiol*. 2005;54(Pt 1):77-81.
18. Kirk SM, Schell RF, Moore AV, Callister SM, Mazurek GH. Flow cytometric testing of susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to ethambutol, isoniazid, and rifampin in 24 hours. *J Clin Microbiol*. 1998;36:1568-1573.
19. Khan MM, Pyle BH, Camper AK. Specific and rapid enumeration of viable but nonculturable and viable-culturable gram-negative bacteria by using flow cytometry. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76:5088-5096.
20. Schumacher WC, Storozuk CA, Dutta PK, Phipps AJ. Identification and characterization of *Bacillus anthracis* spores by multiparameter flow cytometry. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74:5220-5223.
21. Brilha S, Proenca H, Cristino JM, Hanscheid T. Use of flow cytometry (Sysmex) UF-100) to screen for positive urine cultures: in search for the ideal cut-off. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48:289-292.
22. Okada H, Sakai Y, Miyazaki S, Arakawa S, Hamaguchi Y, Kamidono S. Detection of significant

bacteriuria by automated urinalysis using flow cytometry. *J Clin Microbiol*. 2000;38:2870-2872.

23. De Rosa R, Grosso S, Bruschetta G, Avolio M, Stano P, Modolo ML, *et al*. Evaluation of the Sysmex UF1000i flow cytometer for ruling out bacterial urinary tract infection. *Clin Chim Acta*. 2010;411:1137-1142.

24. Manoni F, Fornasiero L, Ercolin M, Tinello A, Ferrian M, Hoffer P, *et al*. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;65:103-107.

25. Wang J, Zhang Y, Xu D, Shao W, Lu Y. Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the diagnosis of urinary tract infection. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:577-582.

26. Okada H, Horie S, Inoue J, Kawashima Y. The Basic Performance of Bacteria Counting for Diagnosis of Urinary Tract Infection Using the Fully Automated Urine Particle Analyzer UF-1000i. *Sysmex J Int*. 2007;17:95-101.

27. Broeren MA, Bahceci S, Vader HL, Arents NL. Screening for urinary tract infection with the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1025-1029.

28. Pieretti B, Brunati P, Pini B, Colzani C, Congedo P, Rocchi M, *et al*. Diagnosis of bacteriuria and leukocyturia by automated flow cytometry compared with urine culture. *J Clin Microbiol*. 2010;48:3990-3996.

29. Kadkhoda K, Manickam K, Degagne P, Sokolowski P, Pang P, Kontzie N, *et al*. UF-1000i flow cytometry is an effective screening method for urine specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;69:130-136.

30. Andreu A, Cacho I, Coira A, Lepe JA. Procedimientos en Microbiología Clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. 2ª Edición (14a), 2010. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>

31. Broeren MA, Maas Y, Retera E, Arents NL. Antimicrobial susceptibility testing in 90 min by bacterial cell count monitoring. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Feb 9.

CORRESPONDENCIA:

Gabriel Alberto March Rosselló.
Hospital Clínico Universitario de Valladolid
Plaza de la trinidad número 5 3º B
47003 Valladolid. España.
Mail: gmr810@hotmail.com

Comentario del revisor Prof. Pilar Codoñer Franch MD. PhD. Profesora Titular del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia. Sección de Nutrición, Gastroenterología y Hepatología Pediátrica. Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia. España. España.

La citometría permite obtener información sobre la fisiología, morfología, genética y diversidad de microorganismos. Las ventajas que proporciona la citometría de flujo frente a otros métodos que emplean fluorocromos son la objetividad, elevada sensibilidad y velocidad de análisis, así como la posibilidad de realizar mediciones simultáneas y separación celular.

En el artículo de G.A. March Rosselló y J.M. Eiros Bouza se expone muy claramente cuáles son los fundamentos de esta técnica innovadora y sus aplicaciones en el campo de la microbiología clínica.

La detección de bacterias en los fluidos corporales es muy importante para el diagnóstico de diferentes enfermedades. Concretamente, la orina puede contener una gran variedad de partículas incluyendo células rojas y blancas, células epiteliales, bacterias y cristales químicos inorgánicos. La presencia y concentración de esas partículas se puede usar para el diagnóstico de diversas enfermedades. En la actualidad se encuentran disponibles citómetros de flujo diseñados específicamente para el urianálisis y ésto permite la determinación simultánea de diferentes tipos celulares.

La detección microorganismos patógenos específicos en muestras clínicas se ha mejorado en gran manera por la

disponibilidad de anticuerpos monoclonales. Estos anticuerpos se pueden marcar fluorescentemente (ya sea directa o indirectamente) para favorecer su detección citométrica, estando disponibles una gran variedad de ellos. Los autores exponen un cuadro con la aplicación de los diversos fluorocromos empleados en la citometría de flujo. El más común es el Isotiocianato de fluoresceína, que se excita en un láser con ión argón a 488 nm, el cual se usa como un estándar en la mayoría de los citómetros de flujo.

Además, se han identificado una gran variedad de colorantes fluorescentes para valorar la viabilidad de los microorganismos y que son particularmente útiles para determinar la eficacia de los compuestos antimicrobianos. Los microorganismos expuestos a antibióticos (ya sea in vivo o in vitro) se comparan con muestras control (sin tratar) y los colorantes apropiados se utilizan para identificar cambios en los ácidos nucleicos, proteínas, membranas, etc...Igualmente, el daño inducido por antibióticos a las membranas celulares se puede detectar introduciendo un compuesto fluorescente (tal como el yoduro de propidium) el cual normalmente es excluido por la membrana celular intacta.

Alternativamente, para determinar la respuesta de las células a un antibiótico, el cual afecta la síntesis de ácidos nucleicos, se podría utilizar un colorante como el DAPI, el cual se une al DNA, o pyronina Y, el cual se une a RNA. Es más, la citometría de flujo permite identificar y determinar la curva dosis-respuesta de subpoblaciones con resistencias variables. Esta prueba se puede llevar a cabo en unas pocas horas y consecuentemente este método puede determinar cuál es el fármaco que podría ser más apropiado para un paciente en particular.

En el artículo se expone también una tabla con diferentes valores utilizados como puntos de corte en la evaluación de la positividad o negatividad de una muestra. También se especifica un comentario acerca de la variabilidad de estos puntos de corte en función de la edad o del tipo de muestra, lo que constituye uno de los puntos clave para su utilización en la práctica clínica.

Comentario del revisor Pilar Vicente MD. PhD. Servicio de Hematología y Hemoterapia del Hospital Universitario de Burgos. Burgos. España

El artículo muestra de forma sencilla y didáctica las grandes ventajas que ofrece la citometría del flujo para la microbiología clínica. En primer lugar, el incremento de la muestra permite obtener resultados estadísticamente significativos y la detección de raros tipos celulares.

Por otro lado, debido a que las determinaciones se hacen en células individuales, se puede detectar la heterogeneidad dentro de la población y cuantificar en una forma que no se puede conseguir por otros medios.

Es importante resaltar las conclusiones finales, haciendo hincapié en que los descubrimientos recientes son la puerta para mayores posibilidades de nuevas aplicaciones.

Recibido, 16 de octubre de 2012
Publicado, 31 de diciembre de 2012



Letters to the Editor / Cartas al Editor

CARACTERIZACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS DETECTADAS EN EL SERVICIO DE MEDICINA DEL HOSPITAL COMANDANTE MANUEL FAJARDO

Iván Díaz Robbio¹; Ivette Díaz Mato²;
José Carlos Hernández Aragonés³

¹Hospital Clínico-Quirúrgico Joaquín Albarrán. ²Facultad de Medicina Dr.
Salvador Allende. ³Hospital Comandante Manuel Fajardo.
La Habana. Cuba

[ivettediaz @ infomed.sld.cu](mailto:ivettediaz@infomed.sld.cu)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2012;3:54-60.

Sr. Editor:

Los medicamentos constituyen la tecnología médica más utilizada en el mundo contemporáneo. Estos han salvado vidas y prevenido enfermedades, fundamentalmente desde la segunda mitad del siglo XX, pero las reacciones adversas que producen los están convirtiendo en un problema de salud pública¹.

En este sentido la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido como reacción adversa medicamentosa (RAM) a cualquier respuesta nociva, no deseada, que se presente con las dosis normalmente utilizadas en el hombre, para el tratamiento, la profilaxis o el diagnóstico de una enfermedad².

Se impone entonces la vigilancia epidemiológica de los fármacos una vez que han sido comercializados, y de eso se encargan justamente los métodos de farmacovigilancia, dentro de los que se destaca la notificación espontánea de RAM.

Conscientes de que este método permite generar señales de alerta sobre el comportamiento de los medicamentos en la población, y teniendo en cuenta además que no existen estudios precedentes en la Institución, nos propusimos realizar un trabajo enmarcado dentro de este campo, que aportara información sobre el comportamiento general de las RAM, en el Servicio de Medicina del Hospital Comandante Manuel Fajardo" y que además contribuyera a promover la notificación en otros servicios. Se determinó su distribución por sexo y grupos de edades. Se clasificaron según severidad, causalidad y por criterios de Rawlins-Thompson. Por último, se identificaron los principales fármacos implicados en su aparición.

Para ello se diseñó un estudio descriptivo, transversal y retrospectivo, para caracterizar las reacciones adversas medicamentosas detectadas en el Servicio de Medicina Interna del Hospital "Comandante Manuel Fajardo", y que además fueron notificadas al Comité Farmacoterapéutico de la Institución, en el período comprendido desde Marzo del 2006 hasta Marzo del 2007. Se escoge precisamente este período por ser de mucha notificación en el servicio, permitiéndonos cumplimentar los objetivos propuestos.

Se analizaron los modelos oficiales de notificación de sospechas de RAM, los cuales aportaron información sobre el medicamento sospechoso de producir el efecto indeseable, las características demográficas de los pacientes y otros datos necesarios para poder establecer las distintas clasificaciones.

Se determinó su frecuencia de aparición en términos porcentuales según sexo y grupos de edades.

De acuerdo a la severidad, las RAM se agruparon en leves, moderadas, graves y mortales. Este eje de clasificación analiza la necesidad de hospitalización o no, si la reacción requirió cambio de terapéutica o antidototerapia, si puso en peligro la vida, y/o si contribuyó directa o indirectamente a la muerte del paciente.

Al aplicar el algoritmo de Karch y Lasagna las RAM se agruparon en definitivas, probables, posibles condicionales y no relacionadas. Este algoritmo de causalidad tiene en cuenta si existe o no una secuencia temporal plausible entre la administración del medicamento y la aparición de la supuesta reacción adversa, causas alternativas que pudieran explicar la reacción, si es una reacción conocida o no, respuesta al suspender el fármaco y si hubo reaparición de los síntomas tras la reexposición al mismo.

Por su parte la clasificación de Rawlins y Thompson tiene en cuenta si el efecto indeseable es predecible o no por las propiedades farmacológicas del medicamento, si está relacionado o no con la dosis impuesta, si se asocia a tratamientos prolongados o si son efectos retardados como sucede con los carcinogénicos y los teratogénicos

Se aplicaron técnicas de estadística descriptiva para cada variable. Los principales resultados se presentaron en tablas y gráficos de distribución de frecuencias y de clasificación cruzada, para facilitar una mejor comprensión de los mismos.

Desde Marzo del 2006 hasta Marzo del 2007 el Comité Farmacoterapéutico del Hospital Fajardo recibió 108 notificaciones de reacciones adversas medicamentosas, los cuales contenían 122 sospechas de RAM, a razón de 1,1 RAM por notificación

Las RAM fueron más frecuentes en las mujeres (69%) y en el grupo de adultos mayores de 60 años (63%). Según puede apreciarse en la tabla 1 las RAM notificadas más frecuentemente fueron la hipotensión arterial, los vómitos, el rash y la tos.

**Tabla 1. Principales RAM notificadas. Servicio de Medicina.
Hospital Manuel Fajardo. Marzo 2006- Marzo 2007**

RAM	No	%
Hipotensión arterial	17	14.0
Vómitos	10	8.0
Rash	8	6.6
Tos	8	6.6
Prurito	7	5.7
Bradicardia sinusal	6	5.0
Cefalea	5	4.1
Edema angioneurótico	4	3.3
Sangramiento Digestivo Alto	4	3.3
Hematuria	3	2.4
Otras	50	41.0
Total	122	100.0

La tabla 2 presenta la distribución de las reacciones por grado de severidad. Obsérvese un predominio de las leves (50%).

**Tabla 2. RAM según severidad. Servicio de Medicina.
Hospital Manuel Fajardo. Marzo 2006- Marzo 2007**

Severidad	No	%
Leves	61	50.0
Moderadas	31	25.4
Graves	28	23.0
Letales	2	1.6
Total	122	100.0

La tabla 3 registra también severidad pero atendiendo a la RAM notificada.

Tabla 3. Severidad de las RAM según sus manifestaciones clínicas.
Servicio de Medicina. Hospital Manuel Fajardo. Marzo 2006- Marzo 2007

Sospechas de RAM	Leves		Moderadas		Graves		Letales		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
Hipotensión	9	53.0	3	17.6	5	29.4	0	0.0	17	100.0
Vómitos	5	50.0	5	50.0	0	0.0	0	0.0	10	100.0
Rash	7	87.5	1	12.5	0	0.0	0	0.0	8	100.0
Tos	4	50.0	4	50.0	0	0.0	0	0.0	8	100.0
Prurito	3	42.9	4	57.1	0	0.0	0	0.0	7	100.0
Bradicardia	0	0.0	2	33.3	4	66.7	0	0.0	6	100.0
Cefalea	3	60.0	2	40.0	0	0.0	0	0.0	5	100.0
Edema angioneurot.	0	0.0	3	75.0	1	25.0	0	0.0	4	100.0
SDA	0	0.0	0	0.0	3	75.0	1	25.0	4	100.0
Hemorragia Cerebral	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	100.0	1	100.0
Otras	30	49.2	16	26.2	15	24.6	0	0.0	61	100.0
Total	61	100.0	31	100.0	28	100.0	2	100.0	122	100.0

Al aplicar el algoritmo de Karch y Lasagna la casi totalidad de reacciones eran probables (50%), y en sólo un caso (0.8%) se pudo demostrar de forma definitiva la relación causal entre la administración del fármaco y la aparición del efecto indeseable (tabla 4).

Tabla 4. RAM según el algoritmo de Karch y Lasagna.
Servicio de Medicina. Hospital Manuel Fajardo. Marzo 2006- Marzo 2007

Causalidad	No	%
Definitivas	1	0.8
Probables	61	50.0
Posibles	53	43.5
Condicionadas	5	4.1
No relacionadas	2	1.6
Total	122	100.0

La tabla 5 muestra los diez primeros fármacos relacionados con un mayor número de RAM, donde el captopril ocupó el 10.2%.

Tabla 5. Fármacos asociados a un mayor número de RAM.
Servicio de Medicina. Hospital Manuel Fajardo. Marzo 2006- Marzo 2007

Fármaco	No	%
Captopril	11	10.2
Cotrimoxazol	9	8.3
Enalapril	9	8.3
Atenolol	8	7.4
Penicilina G Sódica	8	7.4
Ciprofloxacino	5	4.6
Aminofilina	4	3.7
Furosemida	4	3.7
Heparina	4	3.7
Otros	46	42.7
Total	108	100.0

La tabla 6 por su parte muestra RAM de interés en la práctica clínica, reflejando a la warfarina como fármaco implicado en las dos reacciones letales.

Tabla 6. RAM de interés clínico. Servicio de Medicina. Hospital Manuel Fajardo. Marzo 2006- Marzo 2007

RAM	Fármaco implicado	Severidad
Sangramiento Digestivo Alto	Warfarina	Letal
Hemorragia cerebral	Warfarina	Letal
Broncoespasmo	Timolol	Grave
Anemia severa	Interferon α recombinante	Grave
Edema angioneurótico	Enalapril	Grave
Intoxicación digitalica	Digoxina	Grave
Stevens Johnson	Difenilhidantoina	Grave
Stevens Jonhson	Cotrimoxazol	Grave
Colestasis intrahepática	Dietilestilbestrol	Grave
SDA	Naproxeno	Grave
Bradicardia	Atenolol	Grave
Hipoglicemia	Glibenclamida	Grave
Fibrosis pulmonar	Amiodarona	Moderada
Jarish Herxheimer	Penicilina G sódica	Moderada

Las RAM predominaron en el sexo femenino, resultado este compatible con la literatura^{2,3}. Nada sorprendente fue el comportamiento de las sospechas por grupos de edades. Baste recordar que el envejecimiento representa por sí mismo un factor de riesgo para la aparición de RAM^{2,4}. Alteraciones en la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de los medicamentos, y/o un incremento en la sensibilidad de los receptores a los mismos, son razones suficientes para que así sea. El resultado pudiera explicarse también por las características del servicio, que atiende en gran medida pacientes con patologías de elevada prevalencia en los mayores de 60 años, patologías muchas veces concurrentes y que por tanto requieren de una terapéutica múltiple.

Entre las RAM notificadas, la más frecuente fue la hipotensión arterial (Tabla 1). Resultado esperado debido a que cinco de los diez primeros fármacos a los que se atribuyeron reacciones adversas en nuestro estudio tienen reportado esta reacción en la literatura⁵. Afortunadamente, fue clasificada como leve en más de un 50% (Tabla 3).

Los vómitos ocuparon el segundo lugar como RAM más notificada (Tabla 1). Este resultado se ha hecho prácticamente una constante en los estudios de farmacovigilancia⁶⁻⁷, y se explica porque la mayoría de los fármacos producen trastornos gastrointestinales⁵.

La tercera sospecha de RAM más notificada fue el rash (Tabla 1). Si algo hay que tener en cuenta cuando se detectan reacciones de este tipo, es informar a los pacientes de la posible asociación del fármaco con las manifestaciones clínicas presentadas, y la necesidad de no exponerse nuevamente al mismo, para prevenir futuros accidentes que sí pudieran llegar a comprometer su vida.

La tos, que comparte lugar con el rash en la tercera posición (Tabla 1), estuvo asociada en un 100% a los inhibidores de la enzima convertidora (IECAS). La reacción se justifica por el mecanismo de acción de estos fármacos, que además de convertir la angiotensina I en angiotensina II, se encarga de degradar e inactivar a la bradiquinina, autacoide implicado en algunos efectos secundarios de los IECAS como la tos, el rash y el angioedema⁵.

La bradicardia, generalmente grave (Tabla 3) y derivada en un 100% del atenolol, fue la cuarta reacción más notificada (Tabla 1). Originada por el bloqueo de los receptores beta 1 cardíacos, se presenta como uno de los efectos adversos más descritos para este medicamento^{5,8}.

Aunque no se incluyen dentro de las RAM más notificadas, merecen mencionarse por ser de interés clínico, la fibrosis pulmonar y la colestasis intrahepática, secundarias al uso de amiodarona y dietilestilbestrol, respectivamente (Tabla 6). La fibrosis pulmonar asociada a amiodarona se presenta en un 5-20% de los casos revisados en la literatura, manifestándose por infiltrado reticulonodulillar en la radiografía del tórax. Este cuadro se logra revertir con la supresión del fármaco y tratamiento esteroideo⁹. En tanto la ictericia colestásica provocada por el dietilestilbestrol se presenta por deterioro de la secreción de bilis en las células hepáticas, que tal vez indique un efecto directo del fármaco en las propiedades físicas de las membranas celulares o las actividades de enzimas relacionadas con este proceso. La lesión es rápidamente reversible, comenzándose a evidenciar la mejoría alrededor de las tres semanas y observándose la resolución total en el transcurso de dos a tres meses tras la suspensión del fármaco, tal y como ocurrió en el caso reportado¹⁰.

La anemia severa asociada al uso del interferón α recombinante, y la intoxicación digitalica fueron otras dos reacciones adversas de interés clínico (Tabla 6). En el caso de la anemia severa no se logró encontrar una causa secundaria al proceso crónico (melanoma), indicándose desde estudios imagenológicos hasta biopsia de médula ósea, justificándose así nuestras sospechas de reacción adversa secundaria al uso del interferón α recombinante. La intoxicación digitalica por su parte se manifiesta por sialorrea, anorexia, náuseas y vómitos, que se resuelven con la suspensión del fármaco por 2-3 días y reajuste de

dosis. Puede determinar cualquier tipo de arritmia (extrasístoles ventriculares, bloqueos AV y taquicardia auricular no paroxística como las más frecuentes) que obliga a añadir potasio, difenilhidantoína, propranolol o lidocaína como ocurrió en nuestro caso por extrasístoles bigeminadas. Recordar también la utilidad del marcapaso temporal en caso de Bloqueo AV de grado avanzado^{11,12}.

En cuanto al grado de severidad de las reacciones vamos a decir, que aunque las leves constituyeron la mitad de la casuística de este estudio (Tabla 2), y todas las publicaciones nacionales e internacionales coinciden en que son las que con mayor frecuencia aparecen^{6,7,13}, no fueron nada despreciables el 25.4% y el 23% de reacciones moderadas y graves que se reportaron. Tuvimos además un 1.6% de reacciones letales, cifra que se incluye dentro del rango referido por la literatura especializada¹⁴⁻¹⁵.

Si bien es cierto que la utilización de algoritmos se ha mostrado muy útil para unificar criterios a la hora de establecer la relación de causalidad entre una supuesta reacción adversa y el medicamento sospechoso de producirla, su empleo pone de manifiesto algunas de sus limitaciones¹⁴. Así por ejemplo, en nuestro estudio hubo RAM que pudieron ser clasificadas como máximo de probables y no como definitivas, aún en ausencia de otras causas alternativas inmediatas. Sucede que para que una sospecha sea catalogada como una RAM definitiva, además de manifestarse con una secuencia temporal plausible en relación con la administración del medicamento, y de no poder explicarse por una enfermedad concurrente ni por otros fármacos o sustancias, tiene que aparecer necesariamente tras la reexposición¹⁴, y esto sin lugar a dudas implica un cuestionamiento ético por parte del médico, que debe tener como principio básico: no hacer daño.

Todo lo anterior justificaría la elevada cifra de reacciones probables obtenida en nuestra investigación (Tabla 4), aspecto que ya ha sido observado en otros estudios^{6,7,16}.

Similar a otros estudios^{6,7}, las reacciones tipo A por la clasificación de Rawlins y Thompson fueron las de mayor cuantía (87 para un 77.7%), muy a pesar de lo que se plantea respecto a que pudieran ser evitadas por relacionarse con el mecanismo de acción del medicamento. No obstante en múltiples ocasiones se minimizaron los efectos realizando un simple ajuste de las dosis. 28 sospechas de RAM fueron clasificadas como Tipo B, lo que representa un 24.3%. Mencionaremos solamente por su importancia en cuanto a gravedad, los dos Síndromes de Stevens Johnson (SSJ) que se reportaron (Anexos 1 y 2), uno de ellos atribuible al cotrimoxazol y el otro a la difenilhidantoína (Tabla 6). Este síndrome fue descrito en 1922, como una enfermedad febril acompañada de estomatitis, conjuntivitis purulenta y lesiones en piel. Clínicamente se define como un eritema multiforme vesiculobuloso de la piel, boca, ojos y genitales. En cuanto a la etiología, se postula el uso de algunos fármacos, los cuales se ven implicados en más del 60% de los casos estudiados.

Entre los fármacos involucrados se describen los tratamientos prolongados con anticonvulsivantes (difenilhidantoína, carbamazepina, lamotrigina), antiinflamatorios no esteroideos, el alopurinol, así como el uso durante cortos períodos de algunos antimicrobianos como las sulfas, aminopenicilinas, quinolonas y cefalosporinas. La fisiopatología que se ha propuesto en la aparición del cuadro secundario al uso de fármacos, sugiere que los metabolitos activos de estos medicamentos se comportan como haptenos unidos a proteínas en las membranas de las células epidérmicas e inducen una toxicidad directa, mediada por linfocitos T (citotóxicos) y macrófagos con liberación de citoquinas. Esto genera así una necrosis celular directa o induce la expresión de proteínas promotoras de la apoptosis de los queratinocitos. Se han descrito además ciertos factores genéticos como causantes de factores predisponentes en la patogenia y aparición del SSJ asociado al uso de fármacos¹⁷.

Se notificaron además cuatro casos de edema angioneurótico, de ellos uno grave, secundario al uso del enalapril (Tabla 6). El resto de las sospechas tipo B se manifestaron por síntomas y signos menores, fundamentalmente dermatológicos.

El captopril resultó ser el fármaco responsable de la mayor cantidad de efectos indeseables detectados (Tabla 5). La hipotensión y la tos estuvieron dentro de sus principales reacciones adversas, ambas descritas para este tipo de medicamento^{1,5}.

El grupo de los antimicrobianos estuvo muy bien representado por cotrimoxazol, penicilina G y ciprofloxacino, tres de los diez primeros fármacos a los que se atribuyen efectos indeseables en esta investigación (Tabla 5). Dentro de ese grupo de efectos indeseables tenemos la reacción de Jarish Herxheimer (Tabla 6), presentada por un paciente con diagnóstico de endocarditis bacteriana que estaba siendo tratado con penicilina G. Aumento de la temperatura, mialgias, cefalea, escalofríos, hipotensión, taquicardia y malestar concurrente al emprender la antibioticoterapia caracterizan este tipo de evento. Los antimicrobianos (penicilinas, cloranfenicol) provocan la muerte de gran cantidad de microorganismos, los que a su vez liberan toxinas que causan los efectos tóxicos^{2,18}.

El atenolol ocupó también una de las primeras posiciones (Tabla 5). La bradicardia que provoca es la que hace aumentar precisamente el número de sospechas reportadas al fármaco. Véase pues, como una respuesta normal al bloqueo beta-adrenérgico, y hasta beneficiosa por su efecto cardioprotector al disminuir las demandas miocárdicas de oxígeno en pacientes con cardiopatía isquémica, puede llegar a convertirse en un efecto adverso importante, sobre todo si existe un defecto parcial o completo de la conducción auriculoventricular. De ahí que deba ser vigilado en cada paciente tratado.

A propósito de los betabloqueadores, y teniendo en cuenta que fue una reacción grave, vamos a mencionar el cuadro de broncoespasmo que se presentó tras el uso del timolol (Tabla 6). Sucede que no es un betabloqueador selectivo, y por, tanto no garantiza protección contra este tipo de efecto. De hecho, es una reacción descrita para este medicamento¹.

Mención especial merece el grupo de los anticoagulantes, por ser responsable de las dos reacciones letales que se reportaron (Tabla 6). Uno de los fallecidos de 71 años de edad, tratado con warfarina por una valvulopatía mitral operada y con antecedentes de hipertensión arterial, fue visto en nuestro servicio por presentar hematuria y clara focalización neurológica, interpretándose clínicamente como una Hemorragia intracerebral (HIC) secundaria al uso del medicamento, cuadro que lo llevó a la muerte en el plazo de pocas horas. Ciertamente es que la ruptura de los aneurismas de Charcot y Bouchard constituye la causa principal de HIC (60-65%)¹¹. Sin embargo, la hematuria como forma de presentación inicial, avala en este caso, la posibilidad de

una reacción adversa secundaria al uso de la warfarina. En este sentido es válido destacar que la HIC se presenta como la complicación más grave asociada al uso de estos fármacos, con una alta mortalidad (50-60%). Esto se debe al hecho de que los hematomas en pacientes anticoagulados alcanzan un tamaño generalmente masivo como consecuencia de una hemorragia más prolongada, que los casos de causa hipertensiva¹¹.

El segundo fallecido de 82 años, ingresado un mes antes en nuestro servicio por un IMA y un trombo mural secundario, que obligó a tratamiento con warfarina, presentó manifestaciones de astenia, anorexia, hematemesis y melena, cuadro que derivó en un shock hipovolémico y le provocó la muerte.

Amén de ser casi todas conocidas, se consideraron como útiles y bienvenidas todas las RAM notificadas. Creemos que es esta la manera de contribuir a crear una cultura de la notificación, en la que la respuesta instintiva a cualquier sospecha de una reacción adversa, sea notificarla. Solo así pensaremos en el fármaco como agente causal de enfermedad, y por lo tanto mejoraremos la utilización de los mismos y con ello la calidad de la atención médica que se brinda en nuestros hospitales.

REFERENCIAS

- 1.- Calvo DM, Cires M, Cruz MA, Delgado I, Furones JA. Formulario Nacional de Medicamentos. Cuba. ECIMED, 2006.
- 2.- Pérez B. Reacciones Adversas a los medicamentos y adicción a otras sustancias. En: Morón FG, Levy M, eds. Farmacología General. La Habana: ECIMED, 2002: 124-137
- 3.- Carvajal A. Farmacoepidemiología. Valladolid. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Valladolid, 1993.
- 4.- Debesa F, Cué M. Los medicamentos y el anciano. Rev cubana Farm 1999; 33 (3): 210
- 5.- Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11th ed. United States. Editorial McGraw-Hill, 2006
- 6.- Díaz I. Caracterización de las sospechas de reacciones adversas medicamentosas detectadas en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Enrique Cabrera [Trabajo para optar por el título de Diplomada en Farmacoepidemiología]. 2004. Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología. La Habana
- 7.- Alfonso I. Reacciones adversas a medicamentos en pacientes hospitalizados. [Trabajo para optar por el título de Especialista de I Grado en Farmacología]. 2000. Hospital Calixto García. Ciudad de la Habana.
- 8.- Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas. Demasiados bloqueadores betas. Medicamentos y terapéutica 1996; XV (4): 25-9.
- 9.- Flórez J. Farmacología Humana. Navarra. Ediciones Universidad de Navarra, SA, 2003.
- 10.- Roca R. Temas de Medicina Interna. 4 ed. La Habana. ECIMED, 2002
- 11.- Farreras -Rozman. Tratado de Medicina Interna. 15 ed. España. Ediciones ELSEVIER, 2005.
- 12.- Lovesio C. Medicina Intensiva. 5 ed. España. Editorial El Aleteo, 2006.
- 13.- Debesa F, Jiménez G, Bastanzuri T, Avila J, Rosell A, Portuondo C, Yera I. Unidad Coordinadora Nacional de Farmacovigilancia, principales funciones y resultados. Rev Cub Farm 2002; 36 (Suplemento especial No. 2): 214.
- 14.- Laporte JR, Tognoni G. Principios de epidemiología del medicamento. 2ed. Barcelona. Ediciones Masson-Salvat, 1993.
- 15.- Gruchalla RS. Clinical assessment of drug-induced disease. The Lancet 2000; 356 (9240): 1505-11
- 16.- Bermúdez IB, Real N, Acosta JR, Rodríguez A. Farmacovigilancia intensiva en pacientes adultos y pediátricos. Rev cubana Farm 1999; 33 (2): 111-5.
- 17.- Pacheco L, Sánchez MA, Sánchez DL. Síndrome de Stevens-Johnson. Presentación de un caso. Rev Cubana Pediatr 2001; 73(4):240-4
- 18.- Mensa J, López H, Torres A, Martínez JA. Infecciones en urgencias. 4ta ed. España. Ediciones Antares, SCP, 2005.

CORRESPONDENCIA:

Dra. Ivette Díaz Mato
Profesora Asistente.
Facultad de Medicina "Dr. Salvador Allende".



La Habana, Cuba
[ivettediaz @ infomed.sld.cu](mailto:ivettediaz@infomed.sld.cu)

Recibido: 18 de Mayo de 2012.
Publicado: 30 de Noviembre de 2012