

ISSN 2410-3934

# Revista de Energía Química y Física

Volumen I, Número I — Octubre — Diciembre -2014



**ECORFAN<sup>®</sup>**

**Bases de datos**

**Google Scholar.**



**ECORFAN<sup>®</sup>**

## **ECORFAN-Bolivia**

### **Directorio**

#### **Principal**

RAMOS ESCAMILLA- María, PhD.

#### **Director Regional**

SERRUDO GONZALES- Javier, BsC

#### **Director de la Revista**

ESPINOZA GÓMEZ- Éric, MsC

#### **Relaciones Institucionales**

IGLESIAS SUAREZ- Fernando, BsC

#### **Edición de Logística**

DAZA CORTEZ- Ricardo, BsC

#### **Diseñador de Edición**

RAMOS ARANCIBIA- Alejandra, BsC

Revista de Energía Química y Física, Volumen 1, Número 1, de Octubre a Diciembre -2014, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Bolivia. Santa Lucía N-21, Barrio Libertadores, Cd. Sucre. Chuquisaca, Bolivia. WEB: [www.ecorfan.org](http://www.ecorfan.org), [revista@ecorfan.org](mailto:revista@ecorfan.org). Editora en Jefe: Ramos Escamilla-María, Co-Editor: Serrudo González-Javier. ISSN-2410-3934. Responsables de la última actualización de este número de la Unidad de Informática ECORFAN. Escamilla Bouchán- Imelda, Luna Soto-Vladimir, actualizado al 31 de Diciembre 2014.

Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente las opiniones del editor de la publicación.

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional del Derecho de Autor.

## **Consejo Editorial**

PEREZ Y PERAZA- Jorge, PhD.  
(Centre National de Recherche Scientifique)  
France

GONZALEZ ALVARADO- Juan Manuel, PhD.  
(Universidad Politecnica de Madrid)Spain

AVENDAÑO ARRAZATE- Carlos Hugo, PhD.  
(Universidad de Lerida) Spain

MENDEZ MEDINA- Ruben Danilo, PhD.  
(University of Bristol)England

ESCAMILLA GARCIA- Erandi, PhD.  
(University of Burgundy) France

FERNANDEZ PALACIN- Fernando, PhD.  
(Universidad de Cadiz) Spain

CARBAJAL DE LA TORRE- Georgina, PhD.  
(Université des Sciences de Lille 1) France

VALENZUELA- Miguel PhD.  
(ESIQIE – IPN)Mexico

## **Consejo Arbitral**

MENA VIOLANTE-Hortencia Gabriela, PhD.  
(Instituto Politecnico Nacional) Mexico

PÉREZ ROBLES- Juan Francisco, PhD.  
(CINVESTAV-IPN) Mexico

MARTÍNEZ RIVERA- Maria de los Angeles, PhD.  
(Escuela Nacional de Ciencias Biologicas-IPN)  
Mexico

GARCÍA ORTEGA- Héctor, PhD.  
(Facultad de Quimica, UNAM) Mexico

ARMADO MATUTE- Arnaldo José, PhD.  
(Universidad de Carabobo)Venezuela

LUNA PALOMERA- Carlos, BsC  
(Universidad Juarez Autonoma de Tabasco)  
Mexico

SOLÓRZANO MATA- Carlos Josue, PhD.  
(Universidad Autonoma Benito Juarez de Oaxaca)  
Mexico

MARQUEZ RIQUEL- Maria Auxiliadora, MsC  
(Universidad Nacional Experimental Politecnica  
de la Fuerza Armada Bolivariana)- Venezuela

## Presentación

ECORFAN, es una revista de investigación que publica artículos en las áreas de: Energía Química y Física

En Pro de la Investigación, Enseñando, y Entrenando los recursos humanos comprometidos con la Ciencia. El contenido de los artículos y opiniones que aparecen en cada número son de los autores y no necesariamente la opinión de la Editor en Jefe.

En el primer número es presentado el artículo *Frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acude al centro de salud “san roque” en los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011* por PEREZ-Mauricio con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, como segundo artículo está *Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010* por SANDOVAL-Claudia con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, como tercer capítulo está *Identificación de las especies del género Candida en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre – 2011* por ANDRADE-María con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, como cuarto capítulo está *Identificación de portadores de staphylococcus aureus (nariz y manos) en el personal de salud del Hospital Universitario “Anton Boel Villadsen”, en la gestión 2008* por BARRIOS-Blanca & GONZALES-Virginia con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, como quinto artículo está *Prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al “Hospital Jaime Mendoza” Sucre, Enero - Agosto del 2009* por ATALAY-Reina & MORALES-Luz con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, como sexto artículo está *Protocolo de control de calidad de la eficacia antibacteriana de los discos antibióticos para pruebas de susceptibilidad* por CORDOVA-Mónica & LOAYZA-Rissel con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, como séptimo artículo está *Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de Stevia Rebaudiana contra la cándida Albicans, Sucre 2011-2012* por CHILACA-Gladys & CAVA-Cintia, con adscripción en la Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca.

## Contenido

Artículo	Página
<b>Frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud “san roque” en los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011</b> <i>PEREZ-Mauricio</i>	1-59
<b>Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010</b> <i>SANDOVAL-Claudia</i>	60-95
<b>Identificación de las especies del género Candida en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre – 2011</b> <i>ANDRADE-Maria</i>	96-143
<b>Identificación de portadores de staphylococcus aureus (nariz y manos) en el personal de salud del Hospital Universitario “AntonBoelVilladsen”, en la gestión 2008</b> <i>BARRIOS-Blanca &amp; GONZALES-Virginia</i>	144-178
<b>Prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al “hospital Jaime Mendoza” Sucre, Enero - Agosto del 2009</b> <i>ATALAY-Reina &amp; MORALES-Luz</i>	179-208
<b>Protocolo de control de calidad de la eficacia antibacteriana de los discos antibióticos para pruebas de susceptibilidad</b> <i>CORDOVA-Mónica &amp; LOAYZA-Rissel</i>	209-240
<b>Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de Stevia Rebaudiana contra la cándida Albicans, Sucre 2011-2012</b> <i>CHILACA-Gladys &amp; CAVA-Cintia</i>	241-270

*Instrucciones para Autores*

*Formato de Originalidad*

*Formato de Autorización*

## Frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud “san roque” en los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

PEREZ-Mauricio†

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre- Bolivia.*

Recibido 10 de Abril, 2014; Aceptado 17 de Septiembre, 2014

### Resumen

Durante el embarazo, los requerimientos de hierro aumentan la madre de 1 a 2,5 mg / día al principio y hasta 6,5 mg / día al final. Por lo tanto, la anemia durante el embarazo es de interés, ya que se asocia a parto prematuro, aumento de la morbilidad y aumento de la mortalidad, tanto materna como fetal. Este escenario nos permitió recaudar el siguiente objetivo principal: Establecer la frecuencia de anemia por deficiencia de hierro en las mujeres embarazadas que acuden al centro de salud "San Roque", durante los meses de septiembre y octubre.

### Embarazo, anemia, mortalidad

### Abstract

During pregnancy, iron requirements increase the mother of 1 to 2.5 mg / day at the beginning and up to 6.5 mg / day at the end. Therefore, anemia during pregnancy is of interest because it is associated with premature delivery, increased morbidity and increased mortality, both maternal and fetal . This scenario allowed us to raise the following main objective: To establish the frequency of iron deficiency anemia in pregnant women attending the health center " San Roque " during the months of September and October.

### Pregnancy, anemia, morbidity

**Citación:** PEREZ Mauricio.Frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud “san roque” en los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011.Revista deEnergía Química y Física 2014, 1-1: 1-59

†Investigador contribuyendo como primer autor



## Introducción

La carencia de hierro es la deficiencia nutricional más común en el mundo y la principal causa de anemia. En los países en vías de desarrollo los grupos más afectados son los niños, adolescentes y principalmente mujeres gestantes, debido a sus mayores requerimientos, esto determinado por el crecimiento. En la mujer en edad fértil, la pérdida de hierro debido al sangrado menstrual se calcula de alrededor de 28mg de hierro, además se debe mencionar que las mayores necesidades de este mineral son en embarazo siendo que este aumento en las necesidades no son cubiertas por la dieta habitual ya que presentan cantidades insuficientes de hierro y/o presenta una baja biodisponibilidad de este nutriente.<sup>1</sup>

La falta de hierro en el organismo puede producir una mayor síntesis protéica, deficiencia inmunitaria, aumento del ácido láctico, aumento de noradrenalina, menor compensación de enfermedades cardiopulmonares, etc. Siendo que la deficiencia de hierro es común en las embarazadas, especialmente a partir del quinto mes, aceptándose como causa prevalente en la patogénesis de la anemia del embarazo, esto debido a que un solo feto acumula cerca de 300mg de hierro, y la placenta 90mg; además del aumento de la masa corpuscular eritrocítica de la madre requiere un promedio de 980mg/kg y la pérdida de sangre al momento del parto represente un promedio de 100 a 250mg.

Durante el embarazo las necesidades de hierro aumentan en la madre de 1 a 2,5mg/día al comienzo y hasta 6.5 mg/día al final del mismo.

Por lo tanto, la anemia durante el embarazo, es de interés, ya que se asocia a partos prematuros, mayor morbilidad y mayor mortalidad, tanto materna como fetal, además de ser la más frecuente en nuestro país. Este panorama nos permitió plantear el siguiente problema.

## Planteamiento del problema

¿Cuál será frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud San Roque durante los meses de Septiembre a Octubre, Sucre-2011?

## Objetivos

### Objetivo general

Establecer la frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud "San Roque" durante los meses de Septiembre y Octubre. Sucre 2011, mediante el uso de técnicas hematológicas, bioquímicas.

### Objetivos específicos

Determinar hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina.

Relacionar los valores de: hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina con el tiempo de gestación y la edad de las pacientes.

Relacionar los valores de: hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina con el número de embarazos previos.

Relacionar los valores de: hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina con el número de abortos que tuvo la paciente.

### Objeto de estudio

La anemia en embarazadas.

### Campo de acción

La frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas del centro de salud San Roque.

### Hipótesis

Existe una mayor frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que se encuentran en el tercer trimestre de gestación, con respecto al primer y segundo trimestre de gestación

### Justificación

La anemia representa un problema común en las clínicas médicas de todo el mundo y de gran importancia para la salud pública, en especial en los países en vías de desarrollo. Sabemos, que la anemia existe cuando el nivel de hemoglobina circulante es inferior al nivel de los sujetos sanos del mismo sexo y edad que viven en el mismo ambiente. Siendo que los tipos más comunes de anemia se deben a deficiencias nutricionales de hierro.

Estudios realizados en Cuba, reflejan que el 27% de las embarazadas de un total de 150 llegaron a presentar anemia ferropénica, siendo más frecuente en la población mayor de los 30 años, en evaluadas con bajo peso y en quienes tenían un periodo inter genésico menor de 2 años.<sup>14</sup>

En Bolivia a inicios del año 2006, la Sra. Ministra de Salud y Deportes Dra. Nila Heredia, propuso al país la meta “Desnutrición Cero” reconociendo la grave problemática nutricional de los niños, niñas y embarazadas y la necesidad de implementar acciones urgentes, eficaces y coordinadas. Datos obtenidos en estudios realizados en Bolivia reflejan que la magnitud de la desnutrición y la presencia consiguiente de anemia por deficiencia de hierro reportan una prevalencia del 37.1% en mujeres en edad fértil y de 39% en mujeres embarazadas,<sup>4</sup> datos que reflejan un grado de concordancia en estudios realizados por alumnas de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca titulado “Valoración de hierro, capacidad de fijación de hierro y transferrina en embarazadas que acudieron al Hospital gineco-obstetrico y San Pedro Claver en el departamento de Chuquisaca, donde de un total de 171, embarazadas el 31.6% reflejaron la presencia de anemia ferropénica.

La anemia, propiamente en el embarazo, tiene serias consecuencias tanto para el feto como para la madre, esto debido a que el feto depende de la sangre materna y en depleción de precursores como el hierro para la síntesis de ésta, puede ocasionar un crecimiento fetal deficiente, nacimiento prematuro o con bajo peso al nacer, pudiendo desencadenar en muerte neonatal. El embarazo le impone al metabolismo del hierro grande exigencia y presentando una pérdida de hierro en cada periodo de gestación de alrededor de 400 a 600 mg de éste elemento.

Si a esta cifra se suma la pérdida de hierro al cubrir las necesidades que presenta el feto durante la etapa de gestación y además la sangre que se llega a perder durante el parto, los requerimientos mínimos para el primer trimestre llegan a ser de 1 mg diario, en el segundo trimestre es de 2 a 3 mg y en el tercer trimestre es de 3 a 4 mg al día, cantidad que generalmente no se llega a cubrir por la madre gestante.<sup>28</sup>

La importancia de ésta determinación se justifica por las consecuencias que puede traer la falta de hierro sobre el crecimiento y desarrollo del feto, además de que en esta patología, en el estadio 1, no presenta evidencia alguna de deficiencia de hierro en el extendido de sangre periférica y los pacientes no presentan síntomas de anemia, por tanto al no haber evidencias de anemia, no hay indicaciones para realizar estas pruebas.<sup>24</sup> Ya en el estadio 2, pueden empezar a afectarse otros tejidos dependientes del hierro, como los músculos, aunque los síntomas pueden ser inespecíficos.

El nivel de hierro es bajo en suero pero la transferrina aumenta. La tinción con azul de Prusia de la médula en este estadio muestra ausencia de depósitos de hierro y la eritropoyesis deficiente de hierro es evidente.<sup>24</sup>

El estadio 3 de ferropenia, es la anemia franca. Ante la depleción completa del hierro de los depósitos y la disminución del hierro de transporte, los eritrocitos no pueden desarrollarse con normalidad. En ésta fase los pacientes experimentan los síntomas inespecíficos de la anemia, en los casos típicos fatiga y debilidad, sobre todo con el ejercicio.

De esa descripción surge con claridad que muchos individuos pueden tener deficiencia de hierro y parecer sanos. Hasta muy avanzado el estadio 2, pueden no presentar síntoma alguno y por lo tanto es improbable que soliciten atención médica. Incluso en el estadio 3 los pacientes francamente anémicos pueden no solicitar atención médica porque el organismo puede compensar de manera notable la anemia de desarrollo lento.

Además, debido a que las pruebas de detección sistemática incluidas en el hemograma completo no se alteran hasta muy avanzado el estadio 2 o hasta el comienzo del estadio 3, en la mayoría de los pacientes el diagnóstico se establece relativamente tarde en la evolución de la depleción de hierro. Demostrando la relevancia del diagnóstico de esta patología de manera rutinaria en los análisis a embarazadas siendo además métodos y técnicas sensibles, accesibles a la economía actual: además de ser confiables por la sensibilidad y especificidad de los mismos.

Los estudios obtenidos en este trabajo de investigación, permitirán establecer un panorama de la situación actual de la prevalencia de anemia por deficiencia de hierro en las embarazadas, intensificando e implementando en los programas de salud de manera rutinaria las pruebas de diagnóstico para poder encarar la atención adecuada a éste problema de salud pública, realizando la determinación del perfil férrico de manera rutinaria, además de la administración de suplementos minerales, así como contribuir al mismo tiempo con datos estadísticos que servirán de base a otros estudios.

## Marco contextual

### Bolivia. Aspectos Generales-geográficos



**Figura 1** Mapa general del Estado Plurinacional de Bolivia

### Modelo de Estado

Bolivia se constituye en un Estado Unitario, Social de Derecho Plurinacional Comunitario, libre, independiente, soberano, democrático, intercultural, descentralizado y con autonomías.

Bolivia se funda en la pluralidad y el pluralismo político, económico, jurídico, cultural y lingüístico, dentro del proceso integrador del país.<sup>4</sup>

### Datos Geográficos

Bolivia está situada en el centro de América del Sur, entre los 57° 26' y 69° 38' de longitud occidental del Meridiano de Greenwich y los paralelos 9° 38' y 22° 53' de latitud sur.

Tiene un área de 1.098.581 Km<sup>2</sup>. Limita al norte y al este con Brasil, al sur con Paraguay y Argentina, y al oeste con Chile y el Perú. Es, junto con Paraguay, uno de los dos países de Sudamérica sin litoral marítimo. El perímetro total de las fronteras alcanza a los 6.834 kilómetros aproximadamente.<sup>4</sup>

### Principales Zonas Geográficas

Bolivia por sus características climáticas, altitudinales y fisiográficas presenta una amplia diversidad biológica resultante de una gran riqueza de eco regiones y subunidades ecológicas que van desde la zona alto andina hasta la llanura amazónica pasando por los valles secos comprendiendo sus tres macro regiones ecológicas naturales, Andina, Subandina y Llanos.

- **Región Andina:** Abarca el 28% del territorio nacional con una extensión estimada de 307.000 km<sup>2</sup>. Esta zona se halla a más de 3.000 msnm, ubicada entre los dos grandes ramales andinos: las cordilleras Occidental y Oriental o Real, las que presentan algunas de las cumbres más elevadas de América como el Nevado Sajama con 6.542 msnm y el Illimani con 6.462 msnm.

- **Región Subandina:** Intermedia entre el altiplano y los llanos orientales abarca el 13% del territorio (a 2.500 msnm de altitud promedio). Se caracteriza por su actividad agrícola y su clima templado a cálido de 15 a 25 °C. Esta región comprende los valles y Los Yungas que se encuentran humectados por intensas lluvias o por una bruma constante que propicia la existencia de un complejo bioma caracterizado por una densa vegetación (pluvilsilva y nimbosilva) diferenciada en pisos o estratos altitudinales (en los yungas, frecuentemente, a mayor altitud disminuye el número de especies, es la zona con mayores precipitaciones pluviales de la tierra con más de 5.000 mm).<sup>4</sup>
- **Región de los Llanos:** La más grande, abarca el 59% de la superficie nacional, se ubica al norte y este de la cordillera Oriental o Real extendiéndose desde el pie de los Andes hacia el río Paraguay, se caracteriza por ser una tierra de llanuras y bajas mesetas, cubierta por extensas selvas, grandes lagos y ríos caudalosos que bajan de la región andina como el río Mamoré, el Beni entre otros. Registra una temperatura media anual de 22 a 25 °C. Aquí se encuentra la mayor parte de la biodiversidad del país así como las tierras cultivables más provechosas. En esta región convergen los ríos de las cuencas Amazónica y la del Río de la Plata provenientes del país así como de países vecinos. Los departamentos que comprenden la Zona Andina o Altiplano son La Paz, Oruro, Potosí; la Zona Subandina o Valles comprenden Cochabamba, Chuquisaca, Tarija, y la Zona de los Llanos Tropicales comprenden Pando, Beni y Santa Cruz.

## Clima

En Bolivia se pueden encontrar todos los climas, desde el tropical en los Llanos, hasta el polar en las altas cordilleras de los Andes. Además de la variabilidad de las condiciones climatológicas, muchos lugares del país presentan climas irregulares a lo largo del año con variaciones grandes e imprevisibles.

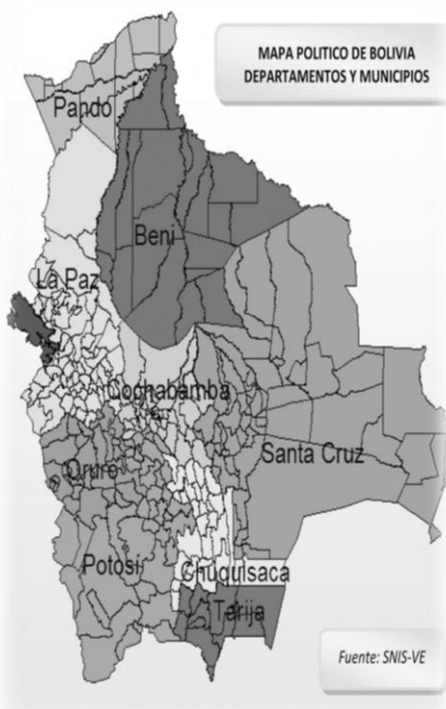
Aunque el total del territorio boliviano está situado dentro de la zona del Trópico de Capricornio, el país presenta una gran variedad de climas existentes en el planeta. La temperatura ambiente no solo se regula por la ubicación geográfica sino también por la altitud sobre el nivel del mar.

En la región influenciada por la Cordillera Real u Oriental y la Occidental o Volcánica, hacia el occidente de Bolivia, el clima se regula por esta situación geográfica, lo cual explica que existan cumbres con nieves eternas y fríos polares en la misma latitud donde se extienden llanuras con clima cálido tropical.<sup>4</sup>

Por nuestra proximidad con el ecuador terrestre, las cuatro estaciones del año no son marcadamente diferentes. La oscilación de la temperatura entre el invierno y el verano es menor de 10 grados centígrados. Las lluvias se producen entre los meses de noviembre y marzo. Sin embargo, en las zonas de los llanos amazónicos y del río de la Plata se registran precipitaciones durante todo el año.

## Hidrografía

En Bolivia se diferencian claramente tres cuencas principales, denominadas del Amazonas, del Plata y Cerrada o del Altiplano además de la vertiente del Pacífico mucho menor y de poca importancia. Estas cuencas a su vez están constituidas por 10 subcuencas, 270 ríos principales, 184 lagos y lagunas, unos 260 humedales, pequeños y medianos, y seis salares.<sup>4</sup>



**Figura 2** Mapa Político del Estado Plurinacional de Bolivia

Bolivia se subdivide en 9 departamentos, 112 provincias, 327 municipios y 1.384 cantones.<sup>4</sup>

## Departamentos

Cada departamento boliviano es encabezado por un Consejo Departamental elegido por las municipalidades del departamento y un Gobernador desde el año 2009 elegido en votación popular, directa y secreta por el pueblo de cada departamento.

## Población

El Estado Plurinacional de Bolivia tiene 10.227.302 habitantes, el 65,98% habita en el área urbana y 34,02% en el área rural; 49,88% son hombres y 50,12% mujeres. En números absolutos, el área urbana concentra la mayor parte de la población con 6.748.075 habitantes y el área rural 3.479.226 habitantes. El país tiene una extensión territorial de 1.098.581 Km<sup>2</sup> y la densidad poblacional es de 9,53 habitantes por Km<sup>2</sup>.

De acuerdo con las estimaciones de población del INE, se estima para el quinquenio 2010-2015, un promedio anual de 374.727 nacimientos y 84.940 defunciones, la Esperanza de Vida al Nacer es de 65,68 años; 63,59 años para los hombres y 67,87 años para las mujeres. En Bolivia, según datos obtenidos de las proyecciones de población realizadas por el INE, para el año 2011, aproximadamente, la mitad de la población tiene menos de 22 años representando el 56,16%, por lo que la pirámide poblacional se muestra ancha en la base. La población menor de 15 años constituye 36,26% de la población total, mientras que la población adulta mayor de 65 años o más representa 4,52%, en tanto que el restante 59,22% de la población está entre los 15 y 64 años.<sup>4</sup>

### **Población general según rangos**

La mayor concentración de población se presenta en el llamado “eje central” del país son 3 departamentos (La Paz, Cochabamba y Santa Cruz) con 7.329.203 habitantes, representando cerca de  $\frac{3}{4}$  de la población general con el 71,66% comprendidos en el rango de mayor al millón de habitantes con respecto a los demás departamentos; en el rango de medio millón al millón comprenden 2 departamentos (Chuquisaca y Potosí) con el 13,93%, y en el rango de menor al medio millón comprende 4 departamentos (Tarija, Oruro, Beni y Pando) con el 14,40%. Bolivia se caracteriza por tener una población joven.<sup>4</sup>

### **La salud en Bolivia**

#### **Capacidad física instalada en el sistema de salud**

#### **Recursos físicos (establecimientos de salud y camas instaladas)**

Información reportada por los Servicios Departamentales de Salud (SEDES) corresponde a: 3.320 Establecimientos de Salud existentes y 14.950 Camas instaladas a nivel nacional en los niveles correspondientes de atención.

#### **Subsector Público**

Existen 2.711 establecimientos de salud correspondiendo, al Primer Nivel 78,25%, al Segundo Nivel 2,53% y al tercer nivel de atención 0,87%. Existen 9.054 camas instaladas que corresponden, al Primer Nivel 22,32%, al segundo nivel 15,53% y al tercer nivel de atención 22,71%.

### **Subsector de la seguridad social (Cajas)**

Existen 187 establecimientos de salud correspondiendo, al Primer Nivel 4,10%, al Segundo Nivel 0,96% y al tercer nivel de atención 0,57%.

Existen 2.823 camas instaladas correspondiendo, al Primer Nivel 1,73%, al segundo nivel 3,61% y al tercer nivel de atención el 13,55%.

#### **Subsector organizaciones no gubernamentales (ONGs)**

Existen 151 establecimientos de salud correspondiendo, al Primer Nivel tiene 4,31%, y al Segundo Nivel de atención 0,24%. Existen 455 camas instaladas que corresponden, al Primer Nivel 1,53%, y al segundo nivel de atención 1,52%.<sup>4</sup>

#### **Subsector Iglesia**

Existen 106 establecimientos de salud correspondiendo, al Primer Nivel 2,68%, al Segundo Nivel 0,42% y al tercer nivel de atención 0,09%.

Existen 913 camas instaladas correspondiendo, al Primer Nivel 1,51%, al segundo nivel 2,95 % y al tercer nivel de atención 1,65%.<sup>4</sup>

#### **Subsector Organismos Privados**

Existen 155 establecimientos de salud correspondiendo, al Primer Nivel 2,23%, al Segundo Nivel 2,20% y al tercer nivel de atención 0,24%. Existen 1.680 camas instaladas que corresponden, al Primer Nivel 2,34%, al segundo nivel 6,55% y al tercer nivel de atención 2,35%.<sup>4</sup>

### Subsector Fuerzas Armadas de la Nación

Existen 10 establecimientos de salud que corresponden, al Primer Nivel 0,27%, y al Segundo Nivel de atención 0,03%. Existen 25 camas instaladas que corresponden sólo al Primer Nivel de atención el 0,17%.<sup>4</sup>

### Establecimientos de Salud y camas instaladas

Los Servicios Departamentales de Salud (SEDES) en todo el país envían al Sistema Nacional de Información en Salud - Vigilancia Epidemiológica (SNIS-VE), la información de la capacidad física existente instalada de establecimientos de salud por niveles de atención; siendo responsabilidad los SEDES, de la clasificación de establecimientos de salud de acuerdo al nivel de atención correspondiente.<sup>4</sup>

Número de Establecimientos de Salud por Departamento y Nivel de Atención: En la gestión 2008 fueron reportados 3.145 establecimientos de salud con respecto al año anterior de 2.983 con un incremento de 5,43%; para la gestión 2009 se reportaron 3.233 establecimientos, representando el 2,80% de incremento con respecto al año anterior; para la gestión 2010 se reportaron 3.320 establecimientos, representando el 2,69% de incremento con respecto al año anterior; entre los años 2007 al 2010 el incremento acumulativo de establecimientos es de 11,30%.<sup>4</sup>

En relación al total de establecimientos de salud a nivel nacional; el 1er. Nivel ocupa el mayor porcentaje con el 72,86% en 5 departamentos (Chuquisaca, Cochabamba, La Paz, Potosí y Santa Cruz); el 2do. Nivel con el 4,70% en 3 departamentos (Cochabamba, La Paz y Santa Cruz).

En el 3er. Nivel con el 1,02% en 2 departamentos (La Paz y Cochabamba) sumando un total de 78,58% los 3 niveles con respecto al resto con el 21,42% representando a los departamentos con un porcentaje menor al 5%.<sup>4</sup>

El número de establecimientos de salud reportados por los Servicios Departamentales de Salud entre los años 2007–2010 por subsectores y nivel de atención son; el subsector público ha tenido un permanente incremento por gestiones; del total reportados el año 2007 el 79,79% corresponde al subsector público, del total reportados el año 2008 el 80,22% corresponde al subsector público, del total reportados el año 2009 el 81,13% corresponde al subsector público, y del total reportados el año 2010 el 81,77% corresponde al subsector público con respecto a los demás subsectores; entre los años 2007-2010 el subsector Público tuvo un incremento de 1,99%.<sup>4</sup>

En la gestión 2007 fueron reportados 14.924 camas instaladas en establecimientos de salud, con respecto al año 2008 de 14.437 reportados, representando un incremento 3,35%; para la gestión 2009 se reportaron 15.015 camas instaladas en establecimientos de salud, que representa un incremento de 0,61% con respecto al año anterior; para la gestión 2010 se reportaron 14.950 camas instaladas en establecimientos de salud con respecto al año anterior; entonces con respecto a la gestión 2007 el incremento representa de 3,53%; este incremento es significativo con respecto al año 2010.<sup>4</sup>



### Producción de Servicios

Es la información mensual de Producción de Servicios captada y procesada por el Sistema Nacional de Información en Salud y Vigilancia Epidemiológica SNIS-VE de las actividades preventivas que realizan los establecimientos de salud, a continuación se describe los datos estadísticos:

- Atención de Consulta Externa nueva y repetida por grupo etáreo y sexo gestión 2004-2010.
- Atención integral a la mujer en edad fértil: Control Prenatal, Atención del Parto, Planificación Familiar y Suministros de micronutrientes para grupos de riesgo.
- Atención al menor de 5 años que incluya inmunizaciones, control de crecimiento y desarrollo, suministro de micronutrientes.
- Atención Odontológica, actividades de Enfermería y algunos eventos relacionados con hospitalización.
- Información relacionada con actividades del Sector Salud en la comunidad/localidad.

Es importante aclarar, que la información consignada se obtiene del seguimiento de actos y/o procedimientos de datos (cualitativos y cuantitativos) consolidados, lo que tendrá que tomarse en cuenta en el momento del uso de esta información con fines didácticos, la presentación de la información mencionada, se divide en 3 grupos:

- Atención ambulatoria (consulta médica, consulta odontológica).

- Hospitalizaciones.
- Programas especiales (atención al menor de 5 años, atención a la mujer en edad fértil)<sup>4</sup>

### Atención Ambulatoria

Atención por Consulta Médica Externa en la Población en General: Las atenciones en salud por Consulta Médica Externa (nuevas y repetidas) entre las gestiones 2003-2007 han tenido un incremento significativo con un promedio por encima del 8% anual, de 11.584.449 a 15.897.972 atenciones en la población en general con un incremento acumulado del 32,99%; entre el año 2008-2009 el incremento es significativo de 15.953.168 a 17.148.318 que corresponde a 1.195.150 de atenciones más que el año anterior, representando el 7,49% de incremento; mucho mayor a la de la gestión 2007-2008 que tuvo un incremento del 0,35%.<sup>4</sup> Las atenciones en salud por Consulta Médica Externa (nuevas y repetidas), como situación comparativa desde el año 2003 al 2009, son las mujeres mayores a 5 años donde más han acudido a las consultas médicas que corresponde por encima del 30% anualmente; en relación a menores de 5 años, los niños son los que más atención tienen en la población en general.

Durante la gestión 2009 se registraron 17.148.318 Consultas Externas (nuevas y repetidas) con 1.106.213 atenciones más que el año anterior, que representa el 7,49% de incremento.

La Consulta Externa registrada por los Servicios Departamentales de Salud clasificados en tres grandes rangos corresponde: en el rango menor al 1.000.000 de atenciones están los departamentos Pando, Beni y Oruro, sumando un total de 1.827.613 que representa el 10,66%, en el rango mayor a 1.000.000 y menor a 2.000.000 están los departamentos de Tarija, Potosí y Chuquisaca, sumando un total de 4.239.942 que representa el 24,73%, y en el rango mayor a 2.000.000 están los departamentos de Cochabamba, Santa Cruz y La Paz, sumando 11.080.763 que representa el 64,62%.<sup>4</sup>

Del total de atenciones por Consulta Externa, 9.866.545 han sido realizadas por mujeres y representa el 57,54%, de los cuales 7.521.670 son atenciones nuevas que representan el 43,86% y repetidas 2.344.875 que representa el 13,67%; de 7.281.773 consultas realizadas por hombres que representa el 42,46%, de los cuales 5.749.423 corresponden a consultas nuevas que representa 33,53% y repetidas 1.532.350 que representa el 8,94%.

Del total de atenciones, 13.271.093 son nuevas que representa el 77,39% y las repetidas son 3.877.225 y representan el 22,61%.<sup>4</sup>

En Bolivia el número de mujeres embarazadas reflejan los siguientes datos:

Ubicación Geográfica	Cobertura De Control Prenatal	Cobertura De Control Prenatal Cuarta Consulta	% De Captación De Embarazadas	Cobertura De Partos Domiciliares	Cobertura De Partos En Servicio	Cobertura De Partos Atendidos Por El SNMN
Bolivia	95,46	26,44	40,44	6,22	35,41	80,7
Chuquisaca	95,18	36,63	43,87	15,52	31,31	97,95
La Paz	92,22	28,53	39,01	4,78	28,76	74,07
Cochabamba	69,35	18,08	37,66	3,41	24,87	94,32
Oruro	95,98	22,94	44,18	9,45	31,62	70,45
Potosí	81,72	21,04	38,51	12,36	23,69	99,88
Tarija	88,89	31,53	43,86	4,95	46,86	89,6
Santa Cruz	136,03	29,33	41,35	3,63	57,81	68,42
Beni	79,77	28,03	41,46	6,8	41,54	99,52
Pando	75,33	22,28	38,77	6,17	25,24	99,81

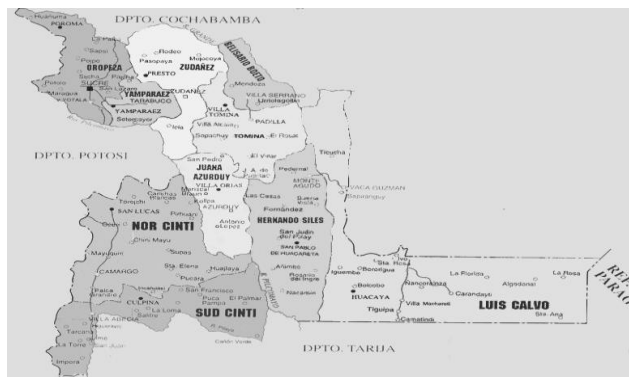
**Tabla 1** Mujer gestante, Año 2010

En Bolivia el control de embarazo refleja las siguientes estadísticas:

Ubicación geográfica	Nuevas (número)	Nuevas (antes del 5to. meses)	Repetidas (número)	Repetidas (con 4 controles)	No de embarazos de alto riesgo	Consulta post parto 1ra. Consulta
Bolivia	280.800,00	113.587,00	314.253,00	77.808,00	44.150,00	71.012,00
Chuquisaca	22.496,00	9.870,00	28.694,00	8.658,00	3.803,00	8.189,00
La paz	73.403,00	28.635,00	91.329,00	22.706,00	12.190,00	17.448,00
Cochabamba	38.864,00	14.638,00	40.254,00	10.134,00	6.960,00	9.008,00
Oruro	13.723,00	6.063,00	11.766,00	3.280,00	1.829,00	3.283,00
Potosí	23.146,00	8.913,00	25.345,00	5.958,00	4.920,00	8.232,00
Tarija	12.949,00	5.680,00	16.134,00	4.593,00	2.536,00	3.963,00
Santa cruz	83.045,00	34.335,00	83.201,00	17.909,00	9.160,00	15.926,00
Beni	11.678,00	4.842,00	16.028,00	4.104,00	2.352,00	4.726,00
Pando	1.576,00	611,00	1.502,00	466,00	400,00	237,00

**Tabla 2** Control de embarazo y puerperio, Año 2010

### Chuquisaca



**Figura 3** Mapa Político del Departamento de Chuquisaca

Nombre Oficial	Chuquisaca
Capital	Sucre
División Administrativa	10 provincias
Superficie Actual	51.524 Km <sup>2</sup>
Población	754.955 habitantes
Fecha Cívica	25 de Mayo (Revolución Chuquisaqueña)
Ubicación	Sureste del país
Límites	Cochabamba y Santa Cruz (Norte), Santa Cruz (Este), Tarija (Sur) y Potosí (Oeste)
Clima	Variado de acuerdo a la zona.

### La Salud en Chuquisaca

De los 754.955 habitantes que tiene el Departamento, más del 60 % corresponde a los niveles 1 y 2 identificados como población pobre, vulnerable para cualquier evento en salud; el mayor porcentaje en el componente de Necesidades Básicas Insatisfechas (NBI) tiene la vivienda inadecuada, seguido por el hacinamiento crítico.<sup>4</sup>

La situación de la salud en el departamento de Chuquisaca, describe y analiza la Tasa Anual de Crecimiento en Porcentaje del 1,56 en el periodo 2005-2010, la Tasa Bruta de Natalidad por mil del 29,10, la Tasa Global de Fecundidad: Hijos por mujer de 4.00, la Tasa Bruta de Mortalidad: por mil del 48.30, una Esperanza de Vida al Nacer en años de 64.63.<sup>4</sup>

En la gestión 2010 se hizo una cobertura a control prenatal del 95,18%, con una cobertura de control prenatal cuarta consulta del 36.63% mostrando un porcentaje de captación de embarazadas del 43.87% con una cobertura de partos domiciliarios del 15.25% y una cobertura de partos en servicio del 31.31%. Además de una cobertura de partos atendidos por el sistema nacional materno-neonatal del 97.95%.

Dentro de lo referido al control de embarazo y puerperio en el año 2010 se atendieron un total de 22.496, un total de 9.870 fueron madres primerizas, 10.105 fueron partos institucionales, de los cuales 1.663 fueron el total de partos domiciliarios, el total de cesáreas fue de 2.439, el número de embarazos con alto riesgo llegó a ser un total de 3.803 casos, y que 8.189 mujeres acudieron a la 1ra consulta postparto. Actualmente en el Departamento de Chuquisaca las prestaciones del SUMI se desarrollan en las diferentes provincias, como en distintos servicios de salud, siendo uno de ellos el Centro de salud "San Roque" dependiente del Servicio Departamental de Salud (SEDES), así también de la Gerencia de Red I (Sucre) ofreciendo atención en el área Médica, de Enfermería, Odontología y Farmacia. No contando éste centro de salud con un laboratorio de análisis clínico.<sup>4</sup>

### Centro de Salud San Roque

El Centro de Salud San Roque se fundó el año 1976, producto de la iniciativa y participación de estudiantes voluntarios de los últimos cursos de las áreas de la salud de la U.M.R.P.F.X.CH. y de personas voluntarias vecinas de la parroquia y del barrio de San Roque.<sup>21</sup>

El dispensario San Roque inició sus actividades con recursos limitados proporcionando sólo atención médica básica, principalmente en lo referido a controles de presión arterial, colocación de inyectables y curaciones, disponiendo para sus propósitos con un solo ambiente de atención.

La dotación de medicamentos para el centro de salud a comienzos de su actividad procedía en parte de donaciones entregadas por los vecinos y médicos que colaboraban con la gente de escasos recursos.

Aproximadamente el año 1980 Sacerdotes Diocesanos, estaban encargados de la parroquia y alojados en las instalaciones de la actual casa parroquial. Ya en el año de 1981 llega la orden trinitaria a Sucre y se hace cargo de la atención de la zona del Tejar, Cementerio y San Roque. Posteriormente en el año 1983 el Gobierno busca espacio para la atención primaria de salud, y uno de los primeros centros en Sucre fue justamente el centro de salud San Roque, que durante los años siguientes recibió apoyo de diferentes instituciones entre ellas: Rotary Club que proporcionó médicos voluntarios en varias especialidades; el Club de Leones que donó equipos de rayos X en el área de odontología, ya que la situación del centro fue siempre precaria, pues no se disponía de recursos para reposición de material ni incentivos para el voluntariado médico.<sup>21</sup>

En el año 1997 el centro se independizó del distrito de manera que los recursos marcados por las atenciones se empiezan a utilizar en beneficio del propio centro, para la adquisición y reposición de insumos y materiales, época en la cual se abre una farmacia y se crea un fondo rotatorio de medicamentos.

Actualmente se llama Centro de Salud San Roque, funciona bajo el convenio de cooperación interinstitucional entre la Dirección Episcopal Pastoral de Salud (DEPAS) y el Servicio Departamental de Salud (SEDES Ch.), por lo cual el personal del centro, debe coordinar su trabajo con la Pastoral de salud y la comunidad parroquial de la Santísima Trinidad, que incluye el centro integral del menor trabajador (CIMET) y una participación activa con el jardín de niños San Roque.

En cuanto al personal se implementa con un médico en calidad de servicio social obligatorio, además por parte de la parroquia con una enfermera, una odontóloga tiempo completo. Ofreciendo servicios médicos, orientados en su mayor parte al control de pacientes en gestación y a niños menores de 5 años, al contar con el servicio del Seguro Universal Materno Infantil SUMI, además de atender a las personas vecinas a la zona de San Roque, priorizando siempre la atención de la gente con escasos recursos.<sup>21</sup>

### **Organización de atención centro de salud “San Roque”**

- **Admisión y venta de fichas.** Adquisición de fichas para atención SUMI o venta de servicios.
- **Servicio de enfermería.** Apertura de historia, registro carnet de salud infantil y gestante, educación en la totalidad de programas, inmunizaciones, control presión arterial, tratamiento T.B., inyectables, sueros, orientación y consejería.
- **Consultorio 1 y 2.** Atención medica general, atención primaria en salud, ginecología, obstetricia pediatría, orientaciones en la totalidad de los programas, curaciones.
- **Odontología.** Consulta odontológica, educación, orientación en salud oral, actividades de prevención, tratamiento y rehabilitación del daño.
- **Farmacia.** Entrega de medicamentos SUMI, venta de medicamentos y consejería.

### **Marco teórico**

#### **Anemia**

Del griego antiguo a-haima-ia. La anemia es la disminución de la cantidad de hemoglobina, la reducción de la masa circulante de glóbulos rojos con la consecuente reducción del aporte de oxígeno.

Al margen del descenso del hematocrito y de la hemoglobina; se observan eritrocitos patológicos muy característicos de acuerdo a las anemias, además de presentar una serie de alteraciones en cuanto a la concentración adecuada a nivel de ciertos compuestos orgánicos e inorgánicos que participan en el transporte de elementos necesarios para una adecuada producción eritrocitaria.<sup>25</sup>

#### **Clasificación de la Anemia**

##### **De acuerdo al compartimiento del Eritrón**

Anemias del primer compartimiento:

El primer compartimiento está constituido por la célula madre. Su destrucción puede deberse a la acción de agentes físicos como la radiación ionizantes, agentes químicos como el Cloranfenicol, o bien alteraciones a nivel genético, produciendo una anemia de tipoaplásica.

Anemias del segundo compartimiento: Este es el compartimiento de proliferación y maduración, se presenta cuando existe un trastorno en las deficiencias de factores eritropoyéticos (hierro, folatos, aminoácidos esenciales).

Anemias del tercer compartimiento: Se da a nivel del compartimiento intravascular, siendo que los eritrocitos circulantes en él, pueden ser destruidos prematuramente por un defecto extrínseco, tal el caso de la anemia hemolítica.<sup>3</sup>

### De acuerdo a los Índices Hemáticos

Anemia normocíticas – normocrómicas: Cuando los valores de Volumen Corpuscular Medio y Hemoglobina Corpuscular Media, son normales (VCM = 87 +/- 5 fL), (HCM = 29 +/- 2 pg).

Anemias microcíticas e hipocrómica: cuando los valores de Volumen Corpuscular Medio y Hemoglobina Corpuscular Media son menores al rango de normalidad (VCM = 87 +/- 5 fL), (HCM = 29 +/- 2 pg).

Anemia macrocítica: cuando el valor de Volumen Corpuscular Medio es mayor al rango de normalidad normal.<sup>5</sup>

### De acuerdo a la capacidad regenerativa

Regenerativa: Cuando se observa una hiper regeneración medular, estas anemias son debidas a hemorragias, hemolisis: las cifras de reticulocitos están aumentadas y se observa hiperregeneracion medular, para compensar el descenso de hemoglobina.

Arregenerativa: Cuando no se observa una regeneración medular, en este tipo de anemias se observan trastornos cuantitativos y cualitativos, en la formación de hematíes por alteración de las células madre y los factores eritropoyeticos.<sup>5</sup>

### De acuerdo a la patogenia

- **Anemia Ferropénica.-** Hibrido Griego/latín, neologismo. ferrum (lat.) penía-ia. Se da por consecuencia del fracaso de la función hematopoyética medular al no disponer de la cantidad necesaria de hierro para la síntesis de hemoglobina. Se presenta por una dieta inadecuada, perdidas crónicas de sangre tanto gastrointestinales como genitourinarias, presentando un cuadro clínico caracterizado por la presencia de síntomas derivados de la hipoxia, observándose palidez, debilidad y fatiga, bajo coeficiente intelectual.<sup>9</sup>
- **Anemia Sideroblástica.-** Constituye un grupo de trastornos cuya característica común es la acumulación de hierro intracelular en forma de hemosiderina y de ferritina tanto en los eritroblastos como en los eritrocitos terminales, debido a un bloqueo del grupo hemo por falta de las enzimas catalizadoras en la incorporación del hierro a la protoporfirina. Las causas más frecuentes de ésta anemia pueden ser producto de la acción de ciertas sustancias sobre la Medula Ósea que alteran la eritropoyesis normal, como la acción del etanol (alcoholismo), de ciertos fármacos (isoniazida, cloranfenicol, etc.) y de sustancias toxicas (cobre, zinc, etc.).

La anemia sideroblástica ocurre en personas adultas, y en algunas ocasiones se comporta como un rasgo mielodisplásico o preleucémico.<sup>28</sup>

- **Talasemia.-** Del griego neologismo thálassahaîma-ia. La característica habitual es un defecto en la síntesis de una o varias cadenas de globina debido a que la persona presentan alteraciones en el código genético que las determina. La disminución en la síntesis de un tipo de globina rompe el equilibrio normal entre las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , que conduce a la acumulación intracelular de una de ellas; formando precipitados intracelulares que son la causa de la destrucción precoz de los eritroblastos y los eritrocitos (hemolisis). La talasemia pertenece al grupo de anemias hemolíticas hereditarias, la más importantes la betatalasemia menor heterocigota, que es de mayor gravedad y la más importante en nuestra población, la betatalasemia mayor homocigota y la alfatalasemia, que también son importantes pero de menor gravedad.<sup>28</sup>
- **Anemia Hemolítica.-** Del griego haîmaly-sis. Se producen cuando existe una alteración en la estructura del hematíe que permite su eliminación antes de lo normal. El acortamiento de la vida media de los hematíes o masa eritrocitaria periférica, junto con una eritropoyesis central, es insuficiente para compensar la disminución eritrocitaria periférica, y dará lugar a la anemia. Las causas de las anemias hemolíticas pueden ser por cuestiones hereditarias que producen alteraciones en la membrana de los hematíes (Hemoglobina Paroxística Nocturna, esferocitosis, eliptocitosis, etc.), en las enzimas (déficit del G6PD, piruvatocinasa, etc.) o en la hemoglobina (talasemia, metahemoglobinopatías, etc.). También pueden ser por causas autoinmunes, como sucede en algunos trastornos de la autorregulación inmunológica, ya sea idiopática o secundarios a otras enfermedades, que dan como resultado la anemia hemolítica autoinmune. Asimismo, pueden haber un origen exógeno por agentes físicos (prótesis valvulares, cirugía cardiaca, coagulopatías, hipertensión arterial, vasculopatías, etc.), agentes químicos (ácidos, cobre, venenos, algunos medicamentos, etc.) y por agentes microbianos (Plasmodium, Babesia, Toxoplasma, Leishmania, Mycoplasma, algunos virus, etc.).<sup>19</sup>
- **Anemia Megaloblástica.-** Se caracteriza por la aparición en medula ósea de megaloblastos, y macrocitosis en sangre periférica. Esto obedece a que existe déficit en alguno de los factores vitamínicos esenciales en la síntesis del ácido desoxirribonucleico (ADN) (ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub>). Como consecuencia se produce una eritropoyesis ineficaz y una hemolisis periférica por las alteraciones morfológicas y metabólicas que presentan los macrocitos. Sucede en situaciones de déficit en la ingesta de dichas vitaminas y procesos de mala absorción intestinal principalmente, pero también por trastornos congénitos de la síntesis del ADN y en la eritroleucemia.<sup>28</sup>
- **Anemia Aplásica.-** Del griego a-plas-ia. Es un cuadro de insuficiencia del tejido hematopoyético que da lugar a una disminución de todas las células sanguíneas periféricas y por tanto a una eritroblastopenia. Las causas de la anemia arregenerativa por aplasia medular pueden ser congénitas, por mecanismos autoinmunes, por la acción de ciertos fármacos, etc.<sup>28</sup>

### Tipos de anemia durante el embarazo

En la etapa de gestación, la embarazada llega a manifestar principalmente 4 tipos de anemia; la anemia fisiológica o gravídica, la anemia megaloblásticas; la anemia hemolítica y la principal de todas la anemia ferropénica.

La anemia fisiológica o gravídica se presenta cuando el volumen sanguíneo de la mujer aumenta hasta un 50%. Esto hace que la concentración de glóbulos rojos en su cuerpo se diluya. A veces, el trastorno recibe el nombre de anemia del embarazo, considerándose normal, salvo en los casos en los que los niveles eritrocitarios disminuyan demasiado.

Otro tipo de anemia que puede referirse en la etapa gestacional es por la inadecuada ingesta de vitaminas como la B<sub>12</sub>, causando anemia megaloblástica, siendo muy importante para la formación de glóbulos rojos y para la síntesis de proteínas. Las mujeres vegetarianas tienen mayor probabilidad de desarrollar deficiencia de ésta vitamina. La inclusión de alimentos derivados de animales en la dieta tales como: leche, carnes, huevos, etc. puede prevenir la deficiencia de vitamina B12. Las mujeres con una dieta vegetariana estricta, generalmente necesitan la administración de ésta vitamina durante el periodo de embarazo.<sup>11</sup> O bien presentar una deficiencia de folato, llamado también ácido fólico, es una vitamina que trabaja conjuntamente al hierro en la formación de glóbulos rojos. La deficiencia de folato durante el embarazo generalmente se asocia a la deficiencia de hierro dado que tanto el ácido fólico como el hierro se encuentran en los mismos tipos de alimentos. Se ha comprobado que el ácido fólico ayuda a reducir el riesgo de dar a luz a hijos con ciertas alteraciones congénitas a nivel del cerebro y de médula espinal, si se ingiere ésta vitamina antes de la concepción y durante los primeros meses de gestación.<sup>9</sup>

El tercer tipo de anemia más frecuente en el embarazo, es la anemia hemolítica, que es un cuadro en el que aumenta la destrucción eritrocitaria y hay una producción acelerada de eritrocitos en medula ósea, es producida debido a la incapacidad de la medula ósea de aumentar la producción de eritrocitos lo suficiente como para compensar la menor supervivencia del eritrocito, en el embarazo se puede presentar la anemia hemolítica autoinmune que es un trastorno clínico complejo caracterizado por la destrucción de eritrocitos secundaria a la presencia de auto anticuerpos que se unen a los antígenos de superficie de los eritrocitos, un ejemplo típico en el embarazo es cuando se produce en el neonato, como resultado de la incompatibilidad de los grupos sanguíneos de la madre y el feto, afectando específicamente al factor Rh y a los grupos sanguíneos ABO. El trastorno se produce por una reacción antígeno-anticuerpo en el torrente circulatorio del lactante ocasionada por la transmisión transplacentaria de los anticuerpos formados por la madre frente a los antígenos incompatibles de la sangre fetal.<sup>28</sup>

En la incompatibilidad del factor Rh, la reacción hemolítica se produce sólo cuando la madre es Rh negativa y el feto Rh positivo. Es raro que el proceso de isoimmunización se produzca en el primer embarazo, aunque cada vez que se produce un embarazo aumentan las posibilidades.<sup>28</sup>

Finalmente el tipo de anemia más frecuente en el embarazo es la anemia por deficiencia de hierro, no olvidemos que durante la etapa de gestación, el feto se vale de los glóbulos rojos de la madre para su crecimiento y desarrollo, especialmente durante los últimos tres meses del embarazo.



Y si una mujer tiene una excesiva cantidad de glóbulos rojos en la médula ósea antes de quedar embarazada, puede utilizar ésta reserva durante la etapa gestacional para satisfacer las necesidades del bebé, pero no sucederá lo mismo con mujeres que no posean la cantidad adecuada de hierro almacenado, desarrollando anemia por deficiencia de hierro.<sup>28</sup>

Las concentraciones de ferritina sérica al inicio del embarazo proporcionan una indicación fiable del déficit de hierro. La hemodilución en el segundo y el tercer trimestre del embarazo reduce las concentraciones de todas las mediciones del estado de hierro y esto significa que los valores umbral para el déficit de hierro establecidos para las mujeres gestantes no son adecuados. En principio, la determinación de los valores como cocientes debería ser más fiable. Las concentraciones del receptor sérico de transferrina muestran un incremento sustancial durante el embarazo, lo que refleja el aumento de la eritropoyesis. Este tipo de anemia es la más común durante la etapa de gestación. Siendo este elemento mineral, el hierro, necesario para la síntesis de hemoglobina.<sup>28</sup>

### Historia del hierro

El hierro es uno de los oligoelementos que cuya deficiencia se considera como un problema de salud pública. Se calcula que más de 3500 millones de seres humanos padecen de deficiencia de hierro tanto en forma subclínica como en forma de anemia ferropénica. En países en vías de desarrollo el 43% de las embarazadas, 44% de los escolares y pre escolares son anémicos.<sup>6</sup>

El hierro se ha utilizado en el tratamiento de muchas enfermedades desde la edad media y el renacimiento. Sin embargo, no fue sino hasta el siglo XVI que la deficiencia de hierro se conoció como la causa de “enfermedad verde”, o clorosis en mujeres adolescentes.<sup>15</sup> Sydenham propuso después al hierro como un tratamiento preferido en lugar de las sangrías y las purgas. En 1832 el médico francés Pierre Blaud reconoció la necesidad de utilizar dosis adecuadas de hierro para tratar la clorosis con resultados satisfactorio. El tratamiento de la anemia mediante la administración de hierro siguió los principios enunciados por Sydenham y Blaud.<sup>15</sup>

La comprensión moderna del metabolismo del hierro empezó en 1937 con el trabajo de Mc Cance y Widdowson acerca de la absorción de hierro y la excreción del mismo y la medición del hierro en el plasma por Heilmeyer y Plotner. Después en 1947, Laurell describió una proteína de transporte de hierro en el plasma que denominó transferrina.

Hahn y colaboradores en 1943 fueron los primeros en utilizar isótopos radiactivos para cuantificar la absorción de hierro y definir la participación de la mucosa intestinal para regular esta función. Durante el decenio siguiente, Huff y colaboradores (1950) iniciaron estudios con isótopos del metabolismo interno del hierro. La creación subsiguiente de mediciones clínicas prácticas del hierro sérico, la saturación de transferrina, la ferritina plasmática y la protoporfirinaeritrocítica permitió la definición del estado del organismo en cuanto a reservas de hierro y la eritropoyesis con deficiencia de hierro, y la detección de los mismos. El hierro es uno de los metales más abundantes del planeta. Esta abundancia probablemente ha facilitado su incorporación a los seres vivos, en los que constituye uno de los elementos fundamentales.

Lo encontramos como componente esencial en todas las formas de vida, desde los organismos unicelulares hasta las formas más complejas de vida.<sup>15</sup>

En la naturaleza, el hierro se presenta en gran parte en la forma de óxido o hidróxido férrico, o el de polímeros en dicho estado, su biodisponibilidad biológica es limitada a menos que se haga soluble mediante ácidos quelantes.

En el organismo humano, el hierro circula como  $\text{Fe}^{3+}$  unido a una proteína transportadora específica: la transferrina. Su función es captar el hierro de los sitios de absorción (mucosa intestinal) o depósito (sistema retículo endotelial) y llevarlo a los órganos hematopoyéticos donde es utilizado.<sup>2, 16</sup>

### Generalidades sobre el hierro

El hierro es un metal de transición que ingresa al organismo inicialmente con los alimentos e interviene no solo en el transporte de oxígeno y electrones sino que es componente fundamental en muchas proteínas y enzimas que nos mantienen en un buen estado de salud. Alrededor de dos tercios de hierro de nuestro organismo se encuentra formando parte de la hemoglobina, proteína de la sangre encargada del transporte de oxígeno a los tejidos y de la coloración característica. El resto se encuentra en pequeñas cantidades en la mioglobina, proteína que suministra oxígeno al músculo y en enzimas que participan de reacciones bioquímicas (oxidación intracelular). El hierro es fundamental sobre todo en niños menores de 10 años para la formación de hemoglobina, ya que participa como cofactor en numerosos procesos biológicos indispensables para la vida tales como el transporte de oxígeno, fosforilación oxidativa, metabolismo de neurotransmisores y la síntesis de ácido desoxirribonucleico.<sup>17</sup>

El organismo recicla el hierro cuando los glóbulos rojos mueren, éste hierro presente en ellos vuelve a la médula ósea para ser reutilizado en la formación de nuevos glóbulos rojos.<sup>12</sup>

En la actualidad se considera que el hierro existe en los alimentos bajo dos formas: Hierro heme (forma ferrosa: es más soluble y mejor absorbible) y hierro no heme (forma férrica: más abundante). Las cantidades de hierro heme y no heme disponibles para absorción en una sola comida pueden calcularse al tomar en cuenta la influencia que otros componentes dietéticos que ejercen sobre la absorción de ambos. El hierro no heme se absorbe por un proceso activo en las células epiteliales (enterocitos). El hierro heme se absorbe en enterocitos por un proceso diferente y posiblemente en un área extensa del intestino delgado. La proporción de hierro total en forma de hierro heme en tejido animal es en promedio del 40%, aunque varía. El resto se clasifica como no heme, al igual que todo el hierro de origen vegetal. El hierro heme se absorbe con una eficiencia mucho mayor que el hierro no heme, y su absorción al parecer se ve influida poco por factores intra-luminales. La absorción de hierro no heme se ve afectada mucho más por factores intra-luminales.<sup>17</sup> En el caso de las mujeres en edad fértil, las principales causas que predisponen a éste grupo a sufrir deficiencia de hierro son las pérdidas excesivas de sangre durante la menstruación. La utilización de los diferentes métodos anticonceptivos es un factor coadyuvante que puede aumentar la frecuencia de la deficiencia de hierro en este grupo poblacional, ya que la utilización de dispositivos intrauterinos puede aumentar hasta en un 50% las pérdidas de sangre y consecuentemente las de hierro. Sin embargo, la utilización de anticonceptivos orales disminuye significativamente las pérdidas de sangre menstrual.<sup>20</sup>

### Absorción intestinal del hierro

Se produce a nivel del tracto digestivo, concretamente en el duodeno y el yeyuno proximal a partir del hierro ingerido en la dieta. En condiciones normales, la alimentación diaria contiene aproximadamente 15 mg de hierro. De ellos el 50% se encuentra en forma soluble, ingresando a la célula intestinal 3 mg y únicamente 1 mg pasa al torrente sanguíneo.<sup>20</sup>

Las etapas del proceso de absorción del hierro podemos resumir en:

- Unión del hierro al borde del cepillo intestinal.
- Paso al enterocito.
- Depósito intracelular.
- Transporte transcelular.
- Paso del hierro desde la luz intestinal al enterocito.

El hierro de la dieta se encuentra unido al grupo heme o como catión inorgánico. Los procesos de absorción de estas dos formas son diferentes:

El hierro heme se absorbe de manera mucho más eficaz que el inorgánico. El proceso no depende de la composición química de la dieta. En situaciones de deficiencia se puede llegar a absorber entre el 20 y el 40% de hierro heme ingerido. Al principio actúan las proteasas gástricas que separan el heme de la globina. El complejo hierro-heme se absorbe intacto y en el enterocito se disocia éste complejo. Los alimentos de origen animal son la fuente principal de este tipo de hierro.

El hierro inorgánico se encuentra en mayor cantidad que el hierro heme en los alimentos, sin embargo tiene menor disponibilidad. Su absorción depende de la cantidad del ión que hay en forma soluble en la luz intestinal, y que varía dependiendo de la composición química de la comida. La mayoría del catión inorgánico se encuentra en forma férrica y por lo tanto insoluble a pH superior a 3. En el pH del estómago se une a las mucinas, manteniéndolo soluble cuando el pH aumenta a nivel del duodeno y yeyuno, favoreciendo su reducción a catión ferroso las secreciones alcalinas del páncreas. En el intestino proximal la solubilidad del hierro está preservada.<sup>13</sup>

El complejo hierro-mucina se acopla a la integrina, molécula presente en la membrana apical de las células de la mucosa intestinal. Este complejo formando una macro-estructura pasa al interior del enterocito por un mecanismo desconocido aun, pero se asocia a las flavonas en la disposición a que el catión pase al interior en un estado redox adecuado.

Otro mecanismo es la Difusión pasiva, siendo que la absorción es mediada por unas proteínas detectadas en las vesículas de las micro-vellosidades del intestino delgado con alta afinidad por el hierro.<sup>13</sup>

El proceso de entrada desde la luz intestinal al enterocito es más rápido y esta menos afectado por la cantidad de hierro absorbible digerido y por las necesidades homeostáticas que los que le siguen (depósito intracelular de hierro, transporte transcelular y paso a la circulación portal). No obstante también está sometido a regulación, en virtud del control del número de receptores de membrana. En su control influyen el contenido de hierro del enterocito y la cantidad de hierro orgánico presente en el lumen intestinal.<sup>13</sup>

Depósito intracelular en el enterocito y transporte transcelular.

Una vez que está en el enterocito, una parte del hierro se dirige hacia la membrana basal en un proceso rápido que dura de dos a cuatro horas. Otra parte se acumula como ferritina. Pequeñas cantidades de este depósito pueden salir hacia la circulación portal.<sup>20</sup>

En las células de la mucosa intestinal no se ha detectado ARN mensajero de transferrina. Pero sí se ha detectado subunidades L y H de la ferritina. Esto sugiere que la transferrina no está implicada en el transporte de hierro a través de la célula, pero que la ferritina sí presenta un papel regulador a este nivel, controlando la absorción de hierro en función de las necesidades orgánicas.<sup>6</sup>

Cuando hay deficiencia se inhibe la síntesis de ferritina en el enterocito y pasa más hierro al torrente sanguíneo. En situaciones de sobrecarga la "defensa" fisiológica se estimula la síntesis, de manera que gran parte del metal absorbido se deposite en la molécula y finalmente se pierda con la descamación fisiológica de las células. El proceso de paso a la circulación portal no se conoce bien.<sup>23</sup>

Factores que influyen en la absorción del hierro.

### Necesidades orgánicas

En la deficiencia aumenta la absorción. Este estímulo está mediado tanto por la cantidad de hierro del enterocito, como por el estado de los depósitos de hierro. En un estudio realizado con animales de experimentación que fueron sometidas a trasplante de intestino procedente de animales que fueron inducidos a algunas patologías digestivas como la aclorhidria, la absorción de hierro se encontró comprometida.<sup>8</sup>

### Absorción de hierro inorgánico (no heme)

El hierro inorgánico por acción del ácido clorhídrico del estómago pasa a su forma reducida, hierro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), que es la forma química soluble capaz de atravesar la membrana de la mucosa intestinal. Algunas sustancias como el ácido ascórbico, ciertos aminoácidos y azúcares pueden formar quelatos de hierro de bajo peso molecular que facilitan la absorción intestinal de este.

Aunque el hierro puede absorberse a lo largo de todo el intestino, su absorción es más eficiente en el duodeno y la parte alta del yeyuno. La membrana de la mucosa intestinal tiene la facilidad de atrapar el hierro y permitir su paso al interior de la célula, debido a la existencia de un receptor específico en la membrana del borde en cepillo.<sup>8,3</sup>

La apotransferrina del citosol contribuye a aumentar la velocidad y eficiencia de la absorción de hierro. En el interior del citosol, la ceruloplasmina (endoxidasa I) oxida el hierro ferroso a férrico para que sea captado por la apotransferrina que se transforma en transferrina. El hierro que excede la capacidad de transporte intracelular es depositado como ferritina, de la cual una parte puede ser posteriormente liberada a la circulación.<sup>20</sup>

### Absorción de hierro heme

Este tipo de hierro atraviesa la membrana celular como una metaloporfirina intacta, una vez que las proteasas endoluminales o de la membrana del enterocito hidrolizan la globina. Los productos de ésta degradación son importantes para el mantenimiento del heme en estado soluble, con lo cual garantizan su disponibilidad para la absorción.<sup>3</sup>

En el citosol la hemoxigenasa libera el hierro de la estructura tetrapirrólica y pasa a la sangre como hierro inorgánico, aunque una pequeña parte del heme puede ser transferido directamente a la sangre portal. Aunque el hierro hemínico representa una pequeña proporción del hierro total de la dieta, su absorción es mucho mayor (20-30%) y está menos afectada por los componentes de ésta.

No obstante, al igual que la absorción del hierro inorgánico, la absorción del heme es favorecida por la presencia de carne en la dieta, posiblemente por la contribución de ciertos aminoácidos y péptidos liberados de la digestión a mantener solubles, y por lo tanto, disponibles para la absorción, ambas formas de hierro dietético. Sin embargo, el ácido ascórbico tiene poco efecto sobre la absorción del heme, producto de la menor disponibilidad de enlaces de coordinación de este tipo de hierro. Por su parte el calcio disminuye la absorción de ambos tipos de hierro.<sup>20</sup>

### Distribución

El contenido corporal de hierro es variable y puede verse influido por numerosos factores, entre ellos la edad y el sexo del sujeto. En personas sanas y en circunstancias normales, más de dos terceras partes del hierro total del organismo se encuentran en la hemoglobina y el tercio restante se reparte mayoritariamente entre las reservas corporales y la mioglobina. En el plasma el contenido mínimo, inferior al 1% del hierro total corporal. Para estudiar la distribución del hierro se puede utilizar una clasificación en compartimientos priorizando la función que realiza cada fracción en el organismo. Con este criterio se diferencian tres compartimientos:

#### Compartimiento funcional:

Es el mayoritario en él se localiza el 85% del hierro total del organismo, está constituido por el hierro de la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos y el que actúa como cofactor de enzimas.

#### Compartimiento de reserva:

Formado, como indica su nombre, por las reservas corporales del hierro. Los depósitos de hierro se localizan en el hígado, bazo y medula ósea. En estos órganos el hierro se almacena en forma de ferritina y hemosiderina.

#### Compartimiento de transporte:

Está constituido por el hierro unido a la transferrina. Desempeña un papel fundamental, ya que a través suyo se realiza el intercambio entre los otros dos compartimientos.<sup>20, 13, 23</sup>

### Ciclo del hierro

Un adulto sano tiene entre 3 y 4 g. de hierro en su cuerpo y sin embargo sólo intercambia con el exterior 1 mg diario. En comparación con otros mamíferos absorbemos entre 50 y 100 veces menos hierro por Kg. de peso, cantidad que se incrementa entre 4 y 8 veces en situaciones de deficiencia y las pérdidas son proporcionalmente la décima parte.<sup>13</sup>

Por lo tanto, en el hombre el balance del hierro es conservador y ahorrativo, y se basa en un continuo reciclaje. La capacidad de absorción y eliminación es pequeña. La respuesta homeostática en situaciones de desequilibrio es limitada y muchas veces insuficiente. Esto explica la gran frecuencia de ésta patología, siendo que somos de las pocas especies que sufren enfermedades por sobrecarga.

Las 4/5 partes del hierro existente en el compartimento de transporte, circulan desde los macrófagos del sistema retículo endotelial (que han fagocitado los glóbulos rojos viejos) hasta los eritroblastos (que sintetizan hemoglobina) de la médula ósea.<sup>13</sup>

En este ciclo se movilizan más de 20 mg de hierro al día. También es importante el movimiento de hierro entre el hepatocito y el compartimento de transporte. Esto acontece en un proceso de difusión pasiva cuya dirección depende de la cantidad de hierro del hepatocito y de la sideremia.

Durante el embarazo existe un movimiento generoso del oligoelemento hacia la placenta para cubrir las necesidades fetales. El intercambio de hierro entre los distintos compartimentos y de estos con el medio externo se realiza mediante los procesos de absorción, transporte, depósito y eliminación.<sup>7</sup>

### Transporte plasmático de hierro

El hierro se transporta en el torrente sanguíneo unido a la proteínatransferrina. Este compartimento representa sólo el 0,05 % del total. El metal tiene en plasma una semivida de una hora y la transferrina de 8 días. Por lo tanto cada molécula de transferrina realiza aproximadamente cien ciclos de transporte de hierro. Las 4/5 partes del flujo se desarrollan entre el macrófago y la eritrón.

Pero la transferrina también transporta hierro procedente de los depósitos y de la absorción intestinal.<sup>23</sup>

### Movimiento intracelular de hierro

El hierro viaja por el interior de las células por rutas poco conocidas. Algunos autores han propuesto al grupo heme como la principal lanzadera intracelular de hierro. Otros han estudiado el papel del ATP.

Un lugar importante al que debe dirigirse el oligoelemento en la célula es la mitocondria donde se asocia al grupo heme. En esta organela se han caracterizado receptores para complejos AMP-hierro y ATP hierro.

Los primeros parecen más efectivos que los segundos en el aporte de hierro. También se ha sugerido que el metal podría acceder a la mitocondria por fusión de su membrana con la de las vesículas que contienen el complejo hierro - transferrina - receptor, aunque esto no ha podido ser demostrado. Algunos estudios han detectado un flujo rápido de hierro entre el ATP y dos familias de proteínas cuyo papel es incierto.<sup>13</sup>

### Metabolismo del hierro

El flujo de hierro a través del plasma asciende a un total de 30 a 40 mg/día, en adultos (unos 0.46 mg/kg del peso corporal). La principal circulación interna de este elemento comprende del eritrón y de las células del retículo endotelial. Cerca de 80 % del hierro en el plasma va a la médula ósea eritroide para quedar integrado a eritrocitos nuevos; esos normalmente circulan unos 120 días, antes de someterse al proceso catabólico dado por el sistema retículo endotelial.<sup>12</sup>

En ese momento, una parte del hierro regresa de inmediato al plasma unido a la transferrina, si bien otras llegan a incorporarse a las reservas de ferritina de las células retículo-endoteliales, y regresan a la circulación de manera más gradual.

En el organismo humano su facilidad para oscilar entre las formas iónicas, ferrosa y férrica le permite actuar indistintamente, como donante o como aceptor reversible de electrones, durante el metabolismo celular. Interviene en el transporte del oxígeno en la sangre (grupo heme de la hemoglobina) y forma parte de los citocromos participando en el transporte de electrones.<sup>12</sup>

El transporte de hierro en las células de la mucosa y el aporte a la transferrina desde reservas retículo endoteliales están determinados por el gen HFE, localizada en el cromosoma 6. La regulación está bien afinada para evitar sobrecarga de hierro durante periodos de exceso del mismo, en tanto permite absorción y movilización aumentadas de las reservas de hierro cuando hay deficiencia de este.<sup>13</sup>

La absorción normal es de solo alrededor de 1,4 mg al día en mujeres adultas; lo más que puede absorberse en circunstancias normales son de 3 a 4 mg de hierro en la dieta.

Se llega a observar incremento de la absorción de hierro siempre que hay agotamiento de las reservas del mismo, o cuando la eritropoyesis está aumentada y es ineficaz. La saturación aumentada resultante de transferrina permite el depósito anormal de hierro en tejidos no hematopoyéticos.<sup>20</sup>

### Excreción de hierro

En las personas sanas las pérdidas de hierro por las vías de excreción habituales, heces y orina, son mínimas y comparables a la cantidad absorbida. El equilibrio, como se ha comentado anteriormente, se regula a través de la capacidad de absorción de la mucosa intestinal.

El hierro eliminado por las heces procede fundamentalmente del que no se ha absorbido de la dieta y de la ferritina contenida en las células descamadas en el tracto intestinal. Por otra parte, en las personas sanas la eliminación de hierro en la orina es insignificante, debido a que circula unido a proteínas que no se filtran por los glomérulos renales.<sup>25, 26</sup> En determinados estados patológicos sí se observa una excreción urinaria aumentada. Entre estas patologías destacan la hemólisis intravascular, el síndrome nefrótico, la hemocromatosis y excepcionalmente, las alteraciones en el metabolismo del hierro.<sup>30</sup>

### Hemoglobina

La Hemoglobina (Hb) es una heteroproteína de la sangre, de masa molecular 64.000 (64 kDa), de color rojo característico, que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos, contenida en los glóbulos rojos. Tiene una parte proteica que es una albúmina: la globina y una parte prostética que es un pigmento llamado porfirina; ésta se une al metal hierro en su estado ferroso Fe<sup>2+</sup> formando una metalporfirina o hemoporfirina llamada grupo HEM o HEME o HEMO.<sup>24</sup>

### Grupo Hem

El grupo hemo es un grupo prostético que forma parte de diversas proteínas, entre las que destaca la hemoglobina, presente en los eritrocitos de la sangre, donde su función principal es la de almacenar y transportar oxígeno molecular de los pulmones hacia los tejidos y dióxido de carbono desde los tejidos periféricos hacia los pulmones. Los grupos hemo son los responsables del color rojo de la sangre.

## Estructura química

El grupo hemo contiene hierro y un anillo de porfirina; es un tetrapirrol cíclico, el tetrapirrol está compuesto por 4 cadenas de pirrol enlazadas a un anillo, en el centro de este anillo se encuentra el átomo de hierro. El grupo hemo es liberado en la lisis eritrocitaria, obteniéndose de esta forma bilirrubina no conjugada o indirecta.

El grupo hemo está formado por el ligando cuadridentado de protoporfirina IX y un átomo hierro ferroso. El grupo hemo es una estructura plana. Tiene propiedades apolares, aunque también tiene cargas negativas, por lo que tiene también un extremo polar. Es por tanto insoluble en agua, por lo que evita el contacto con la misma. Por ello el grupo hemo se localiza entre las estructuras terciarias de las cadenas polipeptídicas y se sitúa en un bolsillo hidrofóbico.

La parte polar queda hacia el exterior. Se forman unas ochenta uniones hidrofóbicas entre el grupo hemo y la estructura terciaria de las cadenas polipeptídicas. Son esos enlaces los que mantienen el grupo hemo en su sitio.

En la parte central del grupo hemo se encuentra el átomo de hierro, metal de transición que puede formar hasta seis enlaces. Forma cuatro enlaces con las cadenas polipeptídicas; el quinto es un enlace coordinado con el nitrógeno de una histidina, siendo este enlace perpendicular hacia arriba, y otro enlace con el oxígeno, siendo éste perpendicular hacia abajo. Este último enlace tiene que ser débil, ya que la hemoglobina es un transportador de oxígeno que tiene que captar y liberar el oxígeno fácilmente.<sup>24</sup>

## Hierro sérico

Este parámetro, por sí solo, no constituye una medida fiable de la deficiencia de hierro. Suele disminuir en ésta situación, pero a veces es normal incluso con deficiencia moderada. Las cifras normales van de 50 a 200 µg/dl y por lo común son mayores en varones que en mujeres. También se advierte una variación diurna de los valores de 10 a 40 µg/dL, menores en la noche. El hierro sérico frecuentemente disminuye en cánceres, problemas inflamatorios y con la isquemia del miocardio. La cuantificación en sí puede generar muchos resultados positivos falsos. Aumenta durante la quimioterapia y casi siempre después de la suplementación con hierro por vía oral o parenteral.

Para el análisis, de los niveles de hierro en sangre, la ingestión de hierro debe interrumpirse durante 24 horas antes de medir su concentración. Después de la administración parenteral, el incremento en esta cifra persiste durante semanas. Es mejor evaluar la concentración sérica de hierro junto con las de ferritina y transferrina, para facilitar la distinción entre la anemia ferropénica de otros cuadros.<sup>17</sup>

El examen de hierro sérico mide la cantidad de hierro en la transferrina. Cada molécula de transferrina puede transportar dos átomos de hierro. Normalmente, cerca de 30% de los "espacios" libres para el hierro en la transferrina están llenos. Al llenar todos los espacios disponibles, los médicos pueden medir la capacidad total de fijación del hierro (TIBC, por sus siglas en inglés) de la sangre. La TIBC, por lo general, es más alta de lo normal, cuando las reservas corporales de hierro están bajas.<sup>17</sup>



## Ferritina

Compuesto férrico formado en el intestino y almacenado en el hígado, bazo y médula ósea, para la incorporación a las moléculas de hemoglobina. Los niveles de ferritina sérica se utilizan como indicador de los depósitos de hierro del organismo.<sup>17</sup>

## Transferrina

La transferrina o siderofilina es la proteína que transporta el hierro absorbido en el intestino además de transportar el liberado por el catabolismo de la hemoglobina, hacia los sitios de almacenamiento (hígado y sistema retículo-endotelial), siendo la proteína transportadora específica del hierro en el plasma.<sup>19</sup> Se trata de una beta 1 globulina, de forma elipsoidal y con un peso molecular que varía entre los 70.000 y los 95.000 Daltons.

Siendo responsable de la distribución del hierro y de su oferta a los sitios de absorción y almacenamiento, donde es incorporado a la ferritina o bien a la hemosiderina y a las células que sintetizan los componentes que requieren para su síntesis el hierro; como por ejemplo la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos.

La transferrina transporta además otros metales, como el cobre, zinc, cobalto y calcio, pero de todos los mencionados, sólo el transporte de hierro y cobre tienen significado fisiológico.<sup>23</sup>

## Funciones de la Transferrina

La función principal de la transferrina, como ya se dijo, es la de transportar el hierro en forma férrica, además de transportar a otros metales. La transferrina es sintetizada en el sistema retículo endotelial (S.R.E.), pero principalmente en el hígado.

Tiene una vida media de 8 a 10 días en circulación y se encuentra en el plasma saturado con hierro en una tercera parte en condiciones normales.<sup>23</sup>

## Fijación de la Transferrina

El paso del complejo transferrina-hierro a las células ocurre en tres etapas así:

**Absorción:** Unión del complejo transferrina-hierro a sus receptores celulares de superficie.

**Fijación:** Paso en el cual el complejo penetra al interior por el mecanismo de endocitosis (o pinocitosis).

**Liberación de la transferrina al plasma:** Por ataque al lugar de fijación aniónica. De esta manera queda libre el hierro intracelular al cual luego se dirige a las mitocondrias posiblemente ayudado por intermediarios intracelulares y allí es utilizado en la síntesis de la hemoglobina.<sup>23</sup>

Algunos autores, como Viteri y Mc Fee, observaron que la anemia materna aumenta el riesgo de recién nacidos con bajo peso. Otros investigadores sostienen que las demandas de hierro fetales estarían aseguradas, ya que la transferencia del mismo de los depósitos maternos al feto es independiente de las reservas maternas de este mineral.<sup>16</sup>

## Capacidad de Fijación Total de Hierro

Es un examen de sangre que muestra si hay demasiado o muy poco hierro en la sangre. Este examen ayuda a medir la capacidad de una proteína, llamada transferrina, para transportar hierro en la sangre.

La Capacidad Total de Fijación del Hierro y la transferrina se utiliza junto al hierro sérico cuando se sospecha que una persona tiene alterado su estado en hierro por exceso o por defecto. Normalmente, solo una tercera parte de la transferrina presente en el suero se está utilizando para transportar hierro. En deficiencias de hierro, este está disminuido, pero sin embargo la capacidad total de fijación de hierro está aumentada. En situaciones en las que existe una sobrecarga de hierro, como en la hemocromatosis, el hierro estará elevado mientras que la capacidad total de fijación de hierro estará normal o disminuida.

Dado que la transferrina se produce en el hígado, tanto la capacidad total de fijación de hierro como la propia transferrina estarán disminuidas cuando exista enfermedad hepática.<sup>22</sup>

### Razones por las que se realiza el examen

Este examen generalmente se realiza cuando el médico sospecha que hay poco hierro (deficiencia) como causa de anemia. Cerca del 65% del hierro corporal es transportado en una parte de los glóbulos rojos, llamada hemoglobina, y alrededor del 4% es transportada en una parte del músculo llamada mioglobina. Aproximadamente el 30% del hierro corporal se encuentra almacenado como una sustancia llamada ferritina en el hígado, la médula ósea y el bazo. Un porcentaje pequeño del hierro corporal circula en el cuerpo a través del torrente sanguíneo, como parte de una proteína llamada transferrina. El hecho de tomar píldoras anticonceptivas y flúor puede llevar a resultados de Capacidad Total de Fijación del Hierro elevados; por el contrario, el Cloranfenicol y la ACTH pueden hacer disminuir los resultados.<sup>22</sup>

### Anemia ferropénica

La anemia puede ser resultado de un defecto de la producción eritrocitaria, una disminución de la vida media de los eritrocitos o una pérdida franca de estas células. Las anemias asociadas con hierro pertenecen a la primera categoría. La formación de eritrocitos requiere muchos componentes; los principales son los necesarios para la producción de hemoglobina; hierro, heme y globina. En función de la causa, la falta de hierro disponible produce una anemia por deficiencia de hierro o ferropénica o por enfermedad crónica.

Como se describió con mayor detalle, el hierro se absorbe a partir de los alimentos en el intestino delgado, la transferrina lo transporta a las células que lo necesitan y se incorpora en ellas, donde se mantiene como ferritina hasta incorporarse en la molécula funcional final. Esta molécula funcional puede ser un citocromo que contiene heme, la mioglobina del músculo o, en el caso de los eritrocitos, la hemoglobina. El hierro puede estar disponible para la incorporación en el heme debido a la carencia de reservas adecuadas en el organismo o sencillamente por un trastorno de la movilización. La anemia asociada con las reservas inadecuadas se denomina ferropénica, en tanto que la anemia que se produce por un trastorno de la movilización es una anemia por enfermedad crónica, debido a su asociación con cuadros inflamatorios crónicos, como la artritis. Cuando el suministro de hierro es adecuado y la movilización está intacta, pero un defecto intrínseco del eritrocito impide la incorporación de hierro al heme, la anemia resultante se denomina sideroblástica, término que hace referencia a la presencia de hierro en los eritrocitos en desarrollo.<sup>24</sup>

La anemia ferropénica aparece cuando la ingestión de hierro es inadecuada para cumplir un nivel estándar de demanda, cuando aumentan los requerimientos de hierro o hay una pérdida crónica de hemoglobina.<sup>24</sup>

## Etiología

### Ingestión inadecuada

La anemia ferropénica aparece cuando el eritrón se depriva de hierro con lentitud. Cada día se pierde alrededor de 1 mg de hierro del organismo, sobre todo en las mitocondrias de la piel y el epitelio intestinal descamados.

Debido a que el organismo se esfuerza por conservar todo el hierro de las otras células envejecidas, incluidos los eritrocitos, la ingestión de 1mg de hierro en la dieta diaria mantiene el equilibrio férrico y cubre las necesidades para la producción de eritrocitos. Cuando la deficiencia de hierro en la dieta es constante, las reservas corporales continuarán en disminución. Por último, la producción de eritrocitos se demorará debido a la incapacidad para producir de hemoglobina. Dado que cerca del 1% de las células se muere en forma natural cada día, la anemia se hará evidente cuando la tasa de producción no pueda reemplazar esta pérdida.<sup>24</sup>

### Aumento de los requerimientos

La deficiencia de hierro también puede producirse cuando el nivel de ingestión es inadecuado para satisfacer las necesidades de un eritrón en desarrollo. Esto ocurre en los periodos de crecimiento rápido, como la primera y segunda infancia. Durante el embarazo, propiamente en el primer y tercer trimestre ya que se necesita para el desarrollo del feto y además para la madre.<sup>24</sup>

## Pérdidas crónicas

Una tercera forma de deficiencia de hierro tiene lugar con la pérdida excesiva de hemoglobina del cuerpo. Esto se produce con las hemorragias o las hemolisis lentas. Cualquier cuadro en el que haya una pérdida lenta o leve de eritrocitos, puede producir deficiencia de hierro. En las mujeres las menstruaciones abundantes pueden constituir una pérdida crónica de sangre que conduce a la deficiencia de hierro, así como la hemorragia asociada con los fibromas. El sangrado gastrointestinal por úlceras o tumores pueden ser la causa tanto en mujeres como en hombres. La pérdida de sangre por el aparato urinario en los casos de cálculos o tumores renales también puede conducir a una deficiencia de hierro. Los individuos con procesos hemolíticos intravasculares crónicos, como hemoglobinuria paroxística nocturna, pueden desarrollar una deficiencia de hierro debido a la eliminación de hemoglobina en orina.<sup>24</sup>

## Disminución de las reservas en el nacimiento

Los recién nacidos presentan un contenido medio de hierro de 75mg/Kg., del que aproximadamente el 75% se encuentra en forma de hemoglobina circulante, constituyendo una verdadera reserva de hierro. El ritmo de crecimiento del feto es mucho más rápido durante el tercer trimestre de la gestación y la mayor parte del hierro que atraviesa la placenta lo hace en este periodo de tiempo, por ello el nacimiento prematuro y el bajo peso se asocia con la disminución de éste hierro de reserva.<sup>20</sup>

## Periodo de gestación

Durante el embarazo existe un aumento de los requerimientos de hierro como consecuencia del rápido crecimiento de la placenta, del feto y de la expansión de la masa globular, lo que produce que los requerimientos totales de hierro en el embarazo sean de aproximadamente unos 1000 mg. éste aumento de los requerimientos suele ser compensado en parte por el hierro proveniente de los depósitos orgánicos del metal, que normalmente en el caso de las mujeres suele ser de unos 300mg; el resto, unos 700-900 mg es compensado por un aumento de la absorción del hierro dietario. Es por ello que los depósitos de hierro luego del parto están prácticamente agotados y esta situación es un factor de riesgo más para este grupo poblacional, sobre todo en el caso de que se produzca otro embarazo en forma consecutiva.<sup>14</sup>

## Mala absorción

Es excepcionalmente rara en personas con tubo digestivo normal, se puede presentar después de una cirugía gástrica y o en síndromes de mala absorción.<sup>13</sup>

## Patogenia

La anemia ferropénica se establece en forma lenta, progresa por estadios que en términos fisiológicos se superponen uno con otro, pero con delimitaciones útiles para comprender la progresión de la enfermedad. El hierro está distribuido en tres compartimientos: el de almacenamiento, en mayor medida como ferritina, en los macrófagos de la médula ósea y las células hepáticas; el de transporte de la transferrina del suero y el compartimiento funcional de la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos. La hemoglobina y la ferritina intracelular constituyen casi el 95% de la cantidad total de hierro.<sup>14</sup>

Durante el periodo de tiempo en el que la ingestión de hierro es menor a la pérdida, el nivel de hierro permanece casi normal. La absorción a través del intestino se acelera, en un intento por cubrir la demanda de hierro relativamente aumentada, pero esto no se manifiesta en pruebas de laboratorio no por síntomas del paciente, y el individuo parece sano. Sin embargo, si el balance negativo continua, aparecen los cuadros de depleción férrica.<sup>3</sup>

## Estadio 1

El estadio 1 de la ferropenia se caracteriza por una depleción progresiva de hierro de los depósitos.

La reserva de hierro del cuerpo es suficiente para mantener los compartimientos de transporte y funciona a lo largo de esta fase, de manera que el desarrollo de los eritrocitos es normal. No hay evidencia alguna de deficiencia de hierro en el extendido de sangre periférica y los pacientes no presentan síntomas de anemia. Los niveles de ferritina se encuentran disminuidos, lo que indica un descenso en el hierro almacenado, que también podría detectarse con tinción férrica de la médula ósea. Sin embargo, al no haber evidencias de anemia, no hay indicaciones para realizar estas pruebas.<sup>24</sup>

## Estadio 2

El estadio 2 de la ferropenia se define por la depleción del compartimiento de depósito de hierro.

Mientras se utiliza el hierro disponible en el compartimiento de transporte la producción de eritrocitos continua normal. La anemia, sobre la base de los valores de hemoglobina pudo empezar a descender. Pueden empezar a afectarse otros tejidos dependientes del hierro, como los músculos, aunque los síntomas pueden ser inespecíficos. El nivel de ferritina es bajo, así como el hierro en suero, pero la transferrina aumenta. La protoporfirinaeritrocitaria libre, la porfirina en la que ingresa el hierro para formar el heme, empieza a acumularse. Los receptores de transferrina aumentan en la superficie de las células de privadas de hierro, porque intentan captar tanto hierro disponible como sea posible. Estos receptores también se liberan hacia el plasma y sus niveles aumentan de manera perceptible en el estadio 2. La tinción con azul de Prusia de la médula en este estadio muestra ausencia de depósitos de hierro y la eritropoyesis deficiente de hierro es evidente.<sup>24</sup>

### Estadio 3

El estadio 3 de ferropenia, es la anemia franca. La hemoglobina y el hematocrito están bajos en relación con los valores de referencia. Ante la depleción completa del hierro de los depósitos y la disminución del hierro de transporte, los eritrocitos no pueden desarrollarse con normalidad. El número de divisiones celulares por precursor aumenta, en un intento de mantener la capacidad de transportar oxígeno.

El resultado inicial es la presencia de células de menor tamaño, con una concentración de hemoglobina adecuada, aunque por último ni siquiera estas células pequeñas pueden llenarse de hemoglobina y son microcíticas e hipocrómica. Como es de esperar, los niveles de ferritina son muy bajos, el hierro también se encuentra bajo, la transferrina elevada y la saturación de transferrina descendida.<sup>24</sup>

En ésta fase los pacientes experimentan los síntomas inespecíficos de la anemia, en los casos típicos fatiga y debilidad, sobre todo con el ejercicio. La palidez es evidente en los individuos de piel clara, pero también puede notarse en las conjuntivas, las mucosas o los pliegues palmares de los sujetos de piel oscura. En la actualidad a veces se observa signos más graves como dolor en la lengua (glositis) por deficiencia de hierro en las células de proliferación rápida del tubo digestivo y fisuras inflamadas en los ángulos de la boca (queilitis angular) y si la deficiencia es de larga evolución puede verse coiloniquia (uñas en cuchara).<sup>24</sup>

De esa descripción surge con claridad que muchos individuos pueden tener deficiencia de hierro y parecer sanos. Hasta muy avanzado el estadio 2, pueden no presentar síntoma alguno y por lo tanto es improbable que soliciten atención médica. Incluso en el estadio 3 los pacientes francamente anémicos pueden no solicitar atención médica porque el organismo puede compensar de manera notable la anemia de desarrollo lento. Además, debido a que las pruebas de detección sistemática incluidas en el hemograma completo no se alteran hasta muy avanzado el estadio 2 o hasta el comienzo del estadio 3, en la mayoría de los pacientes el diagnóstico se establece relativamente tarde en la evolución de la depleción de hierro.<sup>24</sup>

### Epidemiología

Algunos grupos son más propensos a desarrollar anemia ferropénica. Las mujeres en edad fértil tienen riesgo en especial elevado. Su pérdida mensual de sangre aumenta los requerimientos basales de hierro, que la dieta estándar no suele cubrir. En el caso de las adolescentes, esto se complica por el aumento de los requerimientos de hierro asociados con el crecimiento.

Si no hay una reposición adecuada, en el embarazo y la lactancia se puede producir una pérdida de casi 900 mg de hierro, lo que depleción aún más los depósitos en la mujer de edad fértil. Los embarazos posteriores también pueden exacerbar el problema, y provocar anemia en el feto.<sup>24</sup>

Los niños en crecimiento también tienen riesgo alto. El aumento de los requerimientos de hierro mientras el niño crece puede acompañarse de déficit nutricional. La leche de vaca no es una buena fuente de hierro y los lactantes necesitan fórmulas con suplementos hasta los 6 meses, cuando sus reservas fetales se agotan. Esto presupone que se pudieran establecer reservas adecuadas in útero. Aunque la leche materna tiene más hierro que la de vaca, no es una fuente estable. El agregado de un suplemento de hierro también se recomienda para los lactantes alimentados a pecho después de los 6 meses de edad. La deficiencia de hierro es relativamente rara en los hombres adultos y las mujeres posmenopáusicas, porque el cuerpo conserva y estos grupos solo pierden alrededor de 1 mg / día. Si la dieta es adecuada en estos dos grupos deben sospecharse de enfermedades gastrointestinales, como úlceras, tumores o hemorroides, en los pacientes con deficiencia de hierro. La ingestión regular de aspirina puede producir gastritis y hemorragia crónica, así como el alcohol. Sin embargo, los individuos mayores, en particular los que viven solos, pueden no tener una dieta equilibrada y puede ser un déficit nutricional puro en los ancianos. En algunos sujetos mayores la pérdida de acidez gástrica con la edad puede alterar la absorción de hierro.<sup>24</sup>

La ferropenia se asocia con la infección de uncinarias (*Necator americanus* y *Ancylostomaduodenale*) porque los vermes se adhieren a la pared intestinal y literalmente chupan la sangre de los vasos.

Los soldados y los corredores de largas distancias también pueden desarrollar ferropenia.

La “anemia de la marcha” se produce cuando los eritrocitos se hemolizan por el traumatismo de los golpes reiterados en los pies y el hierro se pierde como hemoglobina por la orina. La cantidad perdida por orina puede no ser macroscópica.<sup>24</sup>

### Signos y Síntomas

Los síntomas comunes de la anemia incluyen fatiga, letargo, debilidad, falta de concentración y deterioro de la función inmunológica. La fatiga se presenta, además, porque el hierro es necesario para producir las cantidades adecuadas de ATP, la fuente de energía que utiliza el cuerpo.

Otro síntoma de la anemia, llamado pica, es el deseo de comer cosas poco comunes, como hielo, barro, cartón, pintura o almidón. En casos avanzados, la anemia puede producir mareos, dolores de cabeza, zumbido en los oídos (tinitus), irritabilidad, palidez, sensaciones desagradables en las piernas con la urgencia incontrolable de moverlas (síndrome de piernas inquietas), aceleración de la frecuencia cardíaca (taquicardia) dolor o inflamación de la lengua, esplenomegalia, palidez en los labios y en la piel.<sup>28</sup>

### Consecuencias desencadenantes

- Descenso de la presión sanguínea.
- Disminución de los glóbulos rojos en la sangre.
- Insuficiente oxigenación de los tejidos (hipoxia tisular).
- Hemorragias gastrointestinales o cerebrales
- Interrupción de la menstruación.<sup>27</sup>

## Diagnóstico de laboratorio

Aunque los primeros estadios de la deficiencia de hierro pueden detectarse por pruebas sofisticadas, éstas por lo general no se hacen, a menos que el individuo pertenezca a un grupo de alto riesgo como las embarazadas.

Las pruebas pueden agruparse en tres categorías generales: de rutina, diagnósticas y especializadas.<sup>24</sup>

### Pruebas de rutina

Una vez que se establece la eritropoyesis ferropénica, el historial clínico empezara a mostrar evidencias de microcitosis e hipocromía. El cuadro clásico de la anemia ferropénica implica una disminución de la hemoglobina. Es de esperar un índice de amplitud eritrocitaria mayor al 15% que puede preceder a la caída real de la hemoglobina. A medida que la hemoglobina disminuye, la microcitosis y la hipocromía se hacen más pronunciadas, con valores progresivamente descendentes del volumen corpuscular medio, la hemoglobina corpuscular media y la concentración de hemoglobina corpuscular media.

El recuento eritrocitario por ultimo disminuye, así como el hematocrito. Un recuento de reticulocitos confirmará una disminución de la tasa de eritropoyesis eficaz, además de la anisocitosis, puede haber poiquilocitosis, incluidas algunas células en diana, aunque ninguna forma en particular es característica o predominante.<sup>24</sup>

## Pruebas diagnósticas

Los estudios del hierro aún son el fundamento del diagnóstico de ferropenia. Entre ellos se incluyen las pruebas de hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina y ferritina. El hierro sérico se mide liberando el hierro de la transferrina mediante un ácido, para formar a continuación un complejo coloreado mensurable.

Una muestra de suero se satura con hierro para ocupar todos los sitios de unión de la transferrina. Se elimina el exceso de hierro, se libera el hierro de la transferrina con un ácido y se mide con ferrozina. Debido a que cada molécula de transferrina puede llevar dos moléculas de hierro, la prueba mide de manera confiable la capacidad de saturación del suero en microgramos de hierro por decilitro, la saturación de hierro puede calcularse gracias a una operación matemática.

En realidad, la ferritina no es una proteína extracelular, sino que actúa como un depósito intracelular para el hierro metabólicamente activo. Sin embargo, por lo general la ferritina se encuentra en el suero sin hierro unido. Los niveles séricos reflejan la cantidad de hierro almacenado dentro de las células, por lo general la ferritina sérica es un buen sustituto de la tinción para hierro de la medula ósea. Estas pruebas se usan en conjunto para evaluar el nivel de hierro en un individuo determinado.<sup>24</sup>

### Pruebas especializadas

Aunque no suelen usarse para el diagnóstico de la ferropenia, otras pruebas detectan anomalías que son importantes para el diagnóstico diferencial de cuadros similares. Se trata de los exámenes para evaluar los precursores porfirina acumulados del heme.

La evaluación de la médula ósea no está indicada para la sospecha de ferropenia no complicada. En lugar de ello, una prueba terapéutica con hierro ofrece una evaluación diagnóstica menos invasiva y más barata. Sin embargo, si el diagnóstico es complicado o si las otras pruebas son dudosas, puede realizarse una biopsia de médula ósea.

Con las tinciones de rutina revelará hiperplasia al comienzo de la enfermedad con una proporción mieloide-eritroide reducida, debido a la reducción de la eritropoyesis. A medida que la enfermedad avanza, la hiperplasia disminuye y la deficiencia marcada de hierro conduce al retardo en la producción de eritrocitos, esto nos permite determinar la presencia de anemia ferropénica.<sup>24</sup>

### **Tratamiento para contrarrestar la Anemia Ferropénica**

La primera medida terapéutica para la deficiencia de hierro es tratar la causa subyacente, como uncinarias, tumores o úlceras.

Luego, como sucede con el déficit nutricional simple o el aumento de la demanda, es necesario el agregado de un suplemento dietético para reponer los depósitos de hierro del organismo. Los suplementos orales de sulfato ferroso constituyen la prescripción estándar. Estos suplementos deben tomarse con el estómago vacío, para aumentar al máximo su absorción. Sin embargo, muchos pacientes sufren efectos colaterales como náuseas, estreñimiento, que llevan al escaso cumplimiento del tratamiento.

Por lo tanto, es importante la vigilancia del profesional de la salud para asegurarse de que los pacientes completen el esquema de reposición de hierro, que suele durar 6 meses o más.

En casos raros en el que la absorción intestinal de hierro está alterada, como sucede en la aclorhidria gástrica, puede optarse por la administración parenteral de dextranos de hierro, aunque los efectos colaterales de ese tratamiento son notables. Los riesgos de las transfusiones sanguíneas rara vez justifican la corrección de una deficiencia de hierro no complicada con este método, a menos que la hemoglobina del paciente haya llegado a niveles peligrosamente bajos.<sup>24</sup>

### **Respuesta al tratamiento**

Si el tratamiento es óptimo, los efectos son evidentes con rapidez. El recuento de eritrocitos empieza a subir dentro de los 5 a 10 días. El aumento es esperado de la hemoglobina aparecerá en 2 a 3 semanas y debe alcanzar el nivel normal para ese individuo alrededor de 2 meses después de iniciado el tratamiento adecuado.

El extendido de sangre y los índices hematimétricos reflejarán una población de células deficientes de hierro durante varios meses, pero lentamente predominará la población celular normal. El tratamiento con hierro debe continuar durante 3 a 4 meses para reponer el compartimiento de depósito y evitar una recidiva.

Si el paciente cumple el tratamiento, la falta de respuesta indica la necesidad de realizar más pruebas. El individuo puede tener deficiencia de hierro, pero sufrir una pérdida oculta continua de sangre o absorción inadecuada. Como alternativa deben considerarse las causas de anemia hipocrómica, microcítica no relacionadas con la deficiencia de hierro, como la talasemia.<sup>29</sup>



### Otros estudios relacionados con el tema

Dentro de los trabajos realizados con la finalidad de poder establecer una base informativa para el inicio de programas específicos dirigidos a los grupos de mayor riesgo, en pos de ofrecer mejores condiciones a las mujeres que se encuentran en la etapa de gestación, se realizó en Cuba un estudio analítico de corte transversal en 150 embarazadas escogidas al azar del área urbana del municipio de Cienfuegos (Cuba), con el objetivo de determinar la relación entre la presencia de anemia y la incidencia que provocan las variables socio-demográficas, historia obstétrica y hábitos nutricionales. Obteniendo información de fuente primaria por una entrevista realizada a la población en estudio, para recoger la información y además realizar las determinaciones de laboratorio dirigidas a detectar la existencia de anemia ferropénica. Demostrando el estudio que la anemia ferropénica fue más frecuente en la población mayor de 30 años, en las evaluadas con bajo peso, en quienes tenían un período ínter genésico menor de 2 años y quienes presentaron un mayor número de embarazos y abortos, siendo que los resultados obtenidos fueron en correspondencia con la bibliografía referida para esta enfermedad.<sup>31</sup>

### Estudios y estrategias realizados en Bolivia para prevención de la anemia ferropénica

Desde junio de 1999 en el marco del Programa Integrado de Prevención y Control de las Anemias Nutricionales y mediante Decreto Supremo 24420 de noviembre de 1996, se estableció que “la harina de trigo de consumo nacional deberá ser fortificada con hierro y folato”, y delega a las Secretarías Nacionales de Salud y de Industria y Comercio la emisión del reglamento técnico (Resolución Biministerial N° 008/97).

En IBNORCA (Instituto Boliviano de Normalización y Calidad), la elaboración de la norma nacional de control de calidad. Se establece además, que toda harina que ingrese en el país importada o como donación deberá ser fortificada de acuerdo a normas.

En el Reglamento Técnico se precisa como nutrientes en la composición de la premezcla: B1, B2, Niacina, Folato y Hierro.

Para la fortificación de alimentos con hierro en Bolivia se tomaron en cuenta los hábitos de consumo de la población, se hizo un cálculo de la demanda de harina de trigo y se midió el nivel de consumo de sus derivados (pan y fideos) en algunas regiones, calculándose un consumo promedio de 40 Kg./habitante/año, 110 a 130 gr./día (1995), lo que de acuerdo a la biodisponibilidad del compuesto de hierro utilizado, se esperaba lograr un aporte promedio de 6,2 mg de hierro, esto corresponde aproximadamente a un 60% de las recomendaciones promedio para la población en general.

Posteriormente, el 13 de abril de 2005 mediante Ley N° 3022 se establece “con carácter obligatorio la inclusión de Ácido Fólico en todas las harinas fabricadas y comercializadas en el país, con el propósito de prevenir el nacimiento de niños con malformaciones congénitas tales como defectos del tubo neural, abortos, partos prematuros y peso bajo al nacer”.

En la actualidad la fortificación de harina de trigo forma parte del Programa Nacional de Fortificación de Alimentos que está inmerso en el Programa Desnutrición Cero que persigue reducir la prevalencia de anemias en el país en un 50% hasta el 2010.

Dentro de las nuevas medidas asumidas por el gobierno actual está en proceso de cambio de la premezcla para la fortificación de la harina con fumarato ferroso, cuyas ventajas son:

El fumarato ferroso tiene mayor estabilidad de homogenización en el producto fortificado, frente al hierro reducido y electrolítico, que por efectos de gravedad provoca lo que se denomina precipitación o sedimentación de partículas, lo que ocasiona heterogeneidad de la mezcla.

El fumarato ferroso se constituye en un compuesto quelatado ya que la sal de ácido fumárico en forma de fumarato se adhiere al Ion metálico para constituir un Ion quelato.

Compuesto de por si orgánico que cuando es ingerido por el organismo es plenamente asimilado, ahí es que se deduce que la biodisponibilidad de este compuesto es mejor que la biodisponibilidad de compuestos de naturaleza inorgánica, tal el caso del Ion hierro reducido.

Está en proceso de conclusión del Anteproyecto de la nueva Norma Boliviana 680 (harina de trigo fortificado).

En Bolivia a inicios del año 2006, la Sra. Ministra de Salud y Deportes la Dra. Nila Heredia, propuso al país la meta “Desnutrición Cero”, reconociendo la grave problemática nutricional de los niños, niñas y embarazadas y la necesidad de implementar acciones urgentes, eficaces y coordinadas. De ésta manera lanzó un enorme desafío al sector salud y a otros sectores que tienen que ver con los determinantes de la desnutrición. La siguiente tabla resume algunos indicadores que muestran la problemática nutricional de los niños, niñas y embarazadas.

Indicador	Prevalencia (%)	
Desnutrición global en menores de 5 años	8.3	5.2 % (a)
Desnutrición aguda en menores de 5 años	2.2	1.7 % (a)
Desnutrición en mujeres en edad fértil	2.4	
Desnutrición en embarazadas	12	
Anemia en niños menores de 2 años (grados leve, moderado y severo)	70.4	
Anemia en niños menores de 5 años (grados leve, moderado y severo)	55	
Anemia en mujeres en edad fértil	37.1	
Anemia en mujeres embarazadas	39	
Anemia en mujeres en período de lactancia	42.4	

**Tabla 3** Magnitud de la Desnutrición y Anemia en Menores de 5 años, Mujeres en Edad Fértil y Embarazadas

Se estudiaron a 52 mujeres en edad fértil en el departamento de Santa Cruz, en el centro de salud San Javier de la localidad del mismo nombre, con el objetivo de conocer la prevalencia de anemia ferropénica. Se pudo obtener resultados que reflejaron que el 27,3 % de las mujeres gestantes presentaban anemia siendo la causa fundamental la deficiencia de hierro. Siendo que el promedio de los días de duración de la menstruación fuese más alto en las mujeres con menores reservas de hierro. Además se encontró una alta frecuencia de déficit de folato eritrocitario. Se observaron además valores bajos de hemoglobina en el grupo de las mujeres que se encontraban en el tercer periodo de gestación, encontrándose una relación directa con los parámetros del hierro.<sup>10</sup>

En otro trabajo realizado se incluyeron a 91 gestantes supuestamente sanas, con edades comprendidas entre 20 y 33 años, las que se dividieron en 2 grupos: grupo I con IMC < 19,8 y grupo II con IMC <sup>3</sup> 19,8. Se hicieron determinaciones de hemoglobina, hierro sérico, capacidad total de fijación de hierro y porcentaje de saturación de la transferrina.

Se evaluó la ingestión de alimentos mediante una encuesta de recordatorio de 24 hr. No se encontró diferencias significativas entre los valores medios de los indicadores Bioquímicos en los dos grupos. El 35,1 % del total de las mujeres comenzó su embarazo con niveles de hemoglobina menores que 11.0g/dl y el 22,9 % mostró concentraciones de hierro sérico por debajo de 13  $\mu$ mol/L.

Los porcentajes de adecuación de la ingesta energética para los grupos I y II y de la ingesta proteica para el grupo II fueron menores de lo recomendado. Situaciones similares se presentaron con respecto al hierro, ácido fólico, vitamina C y vitamina A. Todas las embarazadas tuvieron una ingesta de hierro inferior a la cantidad recomendada. Se concluyó que no hubo diferencias significativas en las variables bioquímicas y dietéticas estudiadas en los dos grupos.<sup>10</sup>

En el departamento de Chuquisaca, en el municipio de Sucre tras estudios realizados en pacientes embarazadas se pudo apreciar que el 72% (primer y tercer trimestre) de la población en estudio presentaba anemia ferropénica y el 28% (segundo trimestre) se mantenía relativamente normal durante el embarazo. El 32% de la población que pertenece al primer trimestre del embarazo presentaba un hematocrito comprendido entre 30% – 40% y un valor de hemoglobina comprendida entre 9 – 14 g/dl. Que correspondería a una anemia leve.

En el 28% de la población en estudio demostraron que los niveles de hematocrito y hemoglobina se encontraron dentro de rangos normales, mientras que el 40% de las pacientes en estudio que pertenecen al tercer trimestre de embarazo presentaron anemia ferropénica moderada-severa con un hematocrito entre (28 – 40%) y hemoglobina entre (7 – 13 g/dl.)

Se pudo evidenciar la realización de un trabajo sobre la valoración de hierro, capacidad de fijación de hierro y transferrina en embarazadas que acudieron al hospital Gineco-Obstetrico y San Pedro Claver en el departamento de Chuquisaca, donde de un total de 171 muestras procesadas el 50.9% presentaron valores de Hierro dentro de los rangos normales, mientras que un 31,6% se encontraron por debajo de valores normales y un 17.5% se ubicaron por encima de los valores normales. A su vez se determinó la capacidad total de fijación de hierro en un total de 171 muestras procesadas donde el 51.5% presentaron valores de capacidad total de fijación de hierro dentro de los rangos normales, mientras que el 7.0% se encontraron por debajo de estos valores y 41.5% se ubican por encima de los límites. Además fueron medidos los valores de transferrina en un total de 171 muestras procesadas donde el 80.1% presentaron valores de transferrina normales, mientras que 8.2% se encontraron por debajo de estos valores y 11.7% se ubicaron por encima de los límites.

Los valores de hierro obtenidos reflejaron deficiencia de Hierro en el 31.6 % de las embarazadas, confirmándose con los valores obtenidos de capacidad total de fijación de hierro y transferrina.<sup>10</sup>

## Marco operativo

El presente estudio es descriptivo; transversal y observacional ya que los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades más importantes de una persona comunidad o cualquier otro fenómeno que sea sometido a análisis. Por lo tanto tiene la misión de describir las características de la anemia ferropénica en embarazadas que asisten al centro de salud San Roque, como también determinara la relación que existe entre algunas variables en el momento de la investigación. Transversal por haber desarrollado en un momento determinado (2 meses) y analítico por la aplicación de pruebas para la determinación de hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina y porcentaje de saturación de transferrina.

## Toma de muestra

La zona de elección para la punción venosa fue en la vena mediana cubital y cefálica, lugar en el que se realizó la asepsia con alcohol. Se colocó un torniquete 5 cm. por encima del sitio de punción, de modo que pudo quitarse con facilidad, el cual no se debió ajustar con exceso. La paciente debió abrir y cerrar el puño varias veces (7 veces) y finalmente cerrarlo con fuerza. Antes de realizar la punción, se llevó hacia atrás el émbolo de la jeringa para verificar la permeabilidad de la aguja. Y se procedió a realizar la extracción con mucho cuidado, teniendo.<sup>3</sup>

Una vez obtenida la muestra se trasvasó 3 ml de sangre al tubo de hemólisis que contenía anticoagulante EDTA en una cantidad de 1gt por cada 3 ml de sangre. Siendo vaciada la sangre por las paredes del tubo de centrifuga, evitando la hemólisis de los eritrocitos

Los restantes 2 ml contenidos en la jeringa, fueron transferidos a un tubo de centrifuga siendo vaciada la sangre por las paredes del tubo de centrifuga, evitando la hemólisis de los eritrocitos.<sup>5</sup>

## Microhematocrito

### Técnica

Se trabajó con muestra venosa, que debió ser mezclada por inversión de 10 a 20 veces antes de proceder con la técnica. Se llenó el tubo capilar sin heparina por acción capilar, hasta aproximadamente 1 cm antes de su extremo opuesto. Este procedimiento se realizó por duplicado, previamente debió ser rotulado el tubo capilar con la numeración que correspondía a la paciente.

El extremo vacío del tubo capilar fue cerrado con plastilina y se colocó el tubo capilar en un soporte en posición vertical.

Los tubos llenos se colocaron en los surcos radiales de la plataforma de la microcentrifuga, situando el extremo cerrado o sellado opuesto al centro de la plataforma. Se realizó la centrifugación por 5 min a 10.000 G (r. p. m.)<sup>5</sup>

## Control de calidad y Validación del método

Para el control de calidad se realizó la determinación del microhematocrito en tubos capilares por duplicado, empleando la el mismo equipo de centrifugación y se realizó la relectura de 10 capilares, tomados al azar para corroborar los resultados obtenidos previamente.<sup>5</sup>

### Valores de referencia

Los valores de referencia comprendidos para éste estudio fueron: de 38% a 47%.<sup>5</sup>

### Cálculo de resultados

Después de la centrifugación se leyó la proporción del volumen ocupado por el paquete globular, mediante el ábaco lector de microhematocrito, que nos expresará directamente en una escala, el porcentaje del paquete globular agrupado, sin necesidad de efectuar cálculo alguno. Para ello se alineó la base de la columna del tubo capilar con el lector, restando el volumen de la plastilina que se encontraba sellando el tubo capilar por la parte inferior del mismo y el fondo del menisco del plasma encontrándose en el extremo superior, con el 100% de la escala del ábaco.<sup>5</sup>

### Hemoglobina

#### Técnica

Se homogenizó perfectamente la muestra, antes de usarla.

En tubos de ensayo o cubetas debidamente rotulados con los números correspondiente de la paciente se colocó 5 ml. del reactivo de Drabkin, a uno de los recipientes se marcó como blanco (B) ya que éste, contenía sólo el reactivo y el otro como estándar (St), conteniendo la solución estándar de Drabkin que viene adjunto al kit.

Con la pipeta de Sahli (adosada a la cánula de succión) se agregó 20 ul de la muestra, limpiando la parte externa con papel absorbente se introdujo a los tubos de ensayo previamente rotulados, luego se depositó la muestra y se procedió a enjuagar 3 veces mínimamente con el propio reactivo mediante succión y empuje hasta la medida de 05 con la misma pipeta de toma, de manera que se mezcló la muestra sanguínea con el reactivo de Drabkin. Luego se dejó en reposo por tres minutos, se leyó en espectrofotómetro (540nm) la densidad óptica (D.O) de los desconocidos, que se comparó con la (D.O) del estándar en la curva de calibración, que a posterior nos permitió la determinación de la concentración de hemoglobina por interpolación. Llevando el aparato a cero con el blanco de reactivo (B).

### Control de calidad y Validación del método

Para el control de calidad interno se determinó las absorvanciasperiódicas del estándar, insertando entre las muestras analizadasy realizando la determinación idéntica a las muestras de las pacientes, con los datos obtenidos de las absorvancias del estándar se determinó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, con la finalidad de verificar si al ejecutar la serie analítica se presentaron variaciones en el procedimiento, esto gracias a la representación gráficode las absorvancias obtenidas además de representar los limites de alerta y limites de errores aceptables.

Con ésta curva de control de calidad, se hizo el seguimiento periódico de la calidad de nuestro reactivo. Como control externo se realizó la determinación de muestras escogidas al azar mediante el uso del contador hematológico automatizado del hospital Maternológico Jaime Sánchez Porcel.

Se verificó la linealidad del método con el uso del estándar de Hemoglobina con una concentración de 14,5 g/dl (IHR Diagnostica Lote # 02939),

Para ello se alistó 4 tubos: I (con 15 ml. de reactivo de Drabkin) y II (con 10 ml. de reactivo de Drabkin) el III (con 5 ml. de reactivo de Drabkin) y el IV (con 2.5 ml. de reactivo de Drabkin) luego se midió 20 ul de Standard con una micropipeta limpia y seca, limpiando cuidadosamente el extremo se transfirió a todos los tubos y se mezcló por inversión. Se inició la lectura a 540 nm un tubo que contiene solo reactivo y se ajustó a cero la absorbancia del instrumento (100% de transmitancia), a continuación se leyeron todos los tubos.

La relación entre los valores de absorbancia obtenidos y los correspondientes de concentración de hemoglobina se representaron en una gráfica situando en las ordenadas los valores de absorbancia y en las abscisas los de la concentración de hemoglobina.

Se confirmó el performance (prospecto adjunto al kit) y la calidad de nuestro reactivo, observando que el método fue lineal hasta los 25g/dl de concentración de Hemoglobina.

### Cálculo de resultados

$Hb \text{ g/dl} = \text{Desconocido} \times \text{factor}$

$\text{Factor} = \frac{\text{Stándart g/dl}}{\text{Densidad Óptica Stándart.}}$

### Valores de referencia

Mujeres 11,7 a 15,7 g/dl<sup>5</sup>

### Hierro Sérico

### Técnica

Para la aplicación de la técnica se usó tres cubetas enumerándolas primero como 1 (blanco) 2 (estándar) 3 (desconocido), luego se añadió 2ml de la solución Buffer a las tres cubetas, posteriormente agua destilada 500ul. Solo a la cubeta No 1, 500ul del estándar a la cubeta No 2, y 500ul del suero desconocido a la cubeta No 3.

Se mezcló y luego se midió la absorbancia a las tres cubetas a 560nm. Llevando a cero con agua. Y se procedió a leer la absorbancia. Y después de la lectura se procedió a añadir 1 gota del reactivo de color PBTS a las tres cubetas, se mezcló y procedió nuevamente a medir la absorbancia a 560nm. Entre 6 y 20 minutos después, llevando a cero el equipo con agua.<sup>18</sup>

### Cálculo de resultados

Se corrigió las lecturas de Estándar y D, restándoles los Blancos correspondientes:

$\text{Stándart} - \text{Blanco} = \text{Stándart corregido}$

$\text{Desconocido} - (\text{Blanco} + \text{Blanco de Suero}) = \text{Desconocido corregido}$

$\text{Fe (ug/dl)} = \text{Desconocido corregido} \times \text{factor}$

Dónde:  $\text{factor} = \frac{100 \text{ ug dl}}{\text{Stándart corregido.}}$ <sup>18</sup>

### Control de calidad, Validación del método

Para el control de calidad interno se determinó las absorbancias periódicas del suero control normal de la línea de Winner (Standatrol) con número de lote 034680 (Exp.: 2012/03), insertándolo entre las muestras por analizar y realizando la determinación idéntica a las muestras de las pacientes, con los datos obtenidos de las absorbancias del suero control normal de la línea de Winner (Standatrol) con número de lote 034680 (Exp.: 2012/03).

Se determinó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación, con la finalidad de verificar si al ejecutar la serie analítica se presentaron variaciones en el procedimiento, esto gracias a la representación gráfica de las absorbancias obtenidas además de representar los límites de alerta y límites de errores aceptables (ver anexo). Con esta curva de control de calidad, se hizo el seguimiento periódico de la calidad de nuestro reactivo.

Se verificó la linealidad del método con el uso del estándar de hierro sérico (FerColorAA de Winner), para ello se utilizaron 6 tubos de hemólisis, se añadió 2ml de la solución Buffer a todos los tubos, al primer tubo se colocó 1ml del St (100 ug/dl), al segundo tubo se colocó 2 ml del St (200 ug/dl), al tercer tubo se colocó 3ml del St (300 ug/dl), al cuarto tubo se colocó 4ml del St (400 ug/dl) a diferentes concentraciones, al quinto tubo se colocó 5ml del St (500 ug/dl), al sexto tubo se colocó 6ml del St (600 ug/dl). Se mezcló y luego se midió la absorbancia de los 6 tubos a 560 nm. Llevando a cero con agua. Y se procedió a leer la absorbancia. Y después de la lectura se procedió a añadir 1 gota del reactivo de color PBTS a los tubos, se mezcló y procedió nuevamente a medir la absorbancia a 560nm. Entre 6 y 20 minutos después, llevando a cero el equipo con agua.<sup>18</sup>

Confirmando el performance (prospecto adjunto al kit) y la calidad de nuestro reactivo, observando que el método fue lineal hasta los 500 ug/dl de concentración de hierro sérico.

### Cuidados con el reactivo

Valores de blanco aceptables: la determinación de oligoelementos implica prevenir celosamente las posibilidades de contaminaciones con el agua y los reactivos.

El blanco de reactivo ejecutado de acuerdo a lo anteriormente mencionado, no debió ser superior a 0,150 D.O. debiendo ser además, despreciable la contribución del agua en dicho blanco. Para controlar este último se realizó la una lectura del blanco de reactivo (2 ml de Buffer/Reductor + 0,5 ml de agua + 1 gota de PBTS) contra un Blanco de Buffer.<sup>18</sup>

### Linealidad del método

La reacción fue lineal hasta los 500 ug/dl.

### Valores de referencia

Mujeres: 50 a 170 ug/dl

### Transferrina

#### Técnica

En un tubo de hemólisis se colocó 500ul de suero y 500ul de Solución saturante. Se mezcló y dejó reposar por 5 minutos a 37°C. Con el dosificador provisto se agregó el contenido de una medida al ras de absorbente. Se Tapó y agitó por 5 minutos a temperatura ambiente. La agitación debió ser vigorosa y en sentido longitudinal. Se Centrifugó 10 minutos a 4.000 r.p.m. hasta obtener un sobrenadante límpido o con la opalescencia propia del suero. Luego en tres cubetas enumerándolas primero como 1 (blanco) 2 (estándar) 3 (desconocido), luego se añadió 2ml de la solución Buffer a las tres cubetas, posteriormente agua destilada 500ul. Solo a la cubeta No 1, 500ul del estándar a la cubeta No 2, y 500ul del sobre nadante obtenido de la centrifugación previa a la cubeta No 3. Se mezcló y luego se midió la absorbancia de las cubetas a 560nm. Llevando a cero con agua.

Y después de la lectura se procedió a añadir 1 gota del reactivo de color PBTS a las cubetas, se mezcló y procedió nuevamente a medir la absorbancia a 560nm. Entre 6 y 20 minutos llevando a cero el equipo con agua.<sup>18</sup>

### Cálculo de resultados

Se corrigió las lecturas y se efectuó los cálculos de la misma manera que para el hierro sérico, multiplicando por dos el resultado final, por la dilución del suero.

Stándart – Blanco = Stándart corregido

Desconocido – (Blanco + Blanco de Suero) =  
Desconocido corregido

Fe (ug/dl)= Desconocido corregido X factor

Dónde: factor = 100 ug dl/ Stándart corregido.<sup>18</sup>

### Valores de referencia

Entre 250 – 400 ug/dl

### Cuidados con el reactivo

Valores de blanco aceptables: la determinación de oligoelementos implica prevenir celosamente las posibilidades de contaminaciones con el agua y los reactivos. El blanco de reactivo ejecutado de acuerdo a lo anteriormente mencionado, no debió ser superior a 0,150 D.O. debiendo ser además, despreciable la contribución del agua en dicho blanco.

Para controlar este último se realizó la una lectura del blanco de reactivo (2 ml de Buffer/Reductor + 0,5 ml de agua + 1 gota de PBTS) contra un Blanco de Buffer.

Por otra parte, si la lectura del Blanco de Buffer hubiera sido superior a 0.150 D.O. hubiera sido indicio de contaminación grosera de los reactivos, los cuales deberán desecharse, no encontrándose este indicio.

La agitación insuficiente hubiera producido valores falsamente aumentados de transferrina. Para lo cual se tomo todas las medidas adecuadas para evitar este error.

La concentración  $Fe^3$  de la solución saturante es 10 veces mayor que la del Stándart. Por lo tanto, no debió medirse este reactivo con la misma micropipeta que se utilizó para el stándart y los desconocidos. Caso contrario se pueden introducir fuertes contaminantes que invalidarían los resultados. Además se utilizó para tal fin una pipeta de 1 ml.<sup>18</sup>

### Porcentaje de saturación de transferrina

#### Cálculo de resultados

Se aplicar la siguiente formula:

Hierro sérico

Saturación %= ----- X 100

Transferrina

#### Valores de referencia

Entre 20 – 55 % de saturación de transferrina.<sup>18</sup>

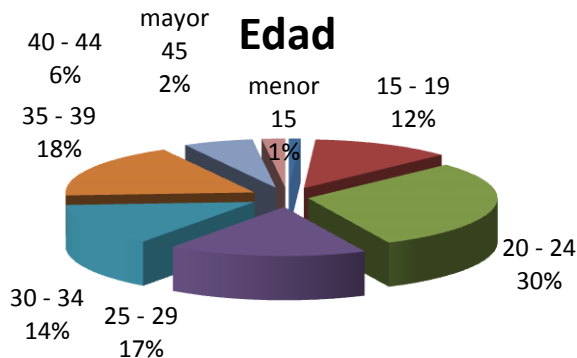


**Resultados**

**Cuadros y graficos**

Edad	Nº de embarazadas	h <sub>i</sub>	h <sub>i</sub> %
Menor o igual a 15	1	0.011	1
15 - 19	11	0.117	11.7≈12
20 - 24	28	0.298	29.8≈30
25 - 29	16	0.170	17
30 - 34	13	0.138	13.8≈14
35 - 39	17	0.181	18
40 - 44	6	0.064	6
Mayor de 45	2	0.021	2
Total	94		100

**Tabla 4** Edad de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

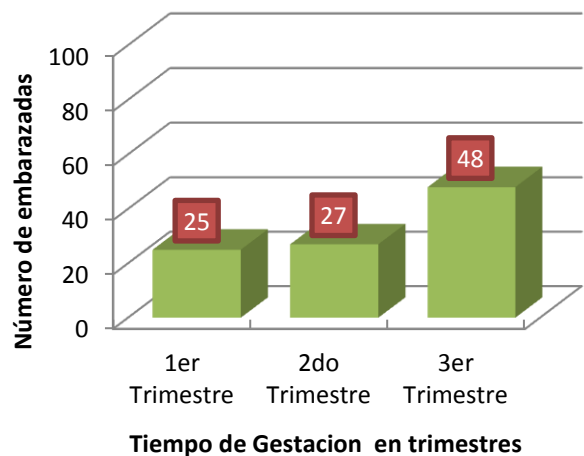


**Gráfico 1** Edad de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: de 20 – 24 años de edad con el 30%; 35 – 39 años el 18%; 25 – 29 años son un 17%; 30 – 34 años el 14%; 15 – 19 años con un 12%; 40 – 44 años con un 6%; y las embarazadas mayores a 45 años representan un 2% y embarazadas menores de 15 años representan el 1%.

Tiempo de gestacion	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
1 <sup>er</sup> trimestre	24	0.255	25.5 ≈ 26
2 <sup>do</sup> trimestre	26	0.277	27.6 ≈ 27
3 <sup>er</sup> trimestre	44	0.468	46.8 ≈ 47
Total	94		100

**Tabla 5** Tiempo de gestación de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

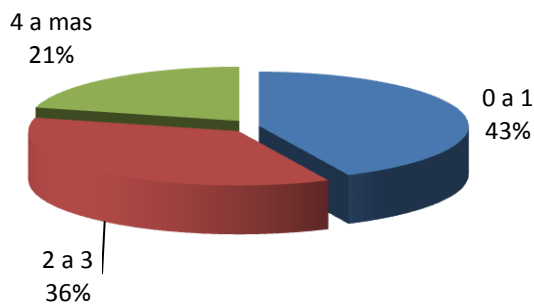


**Gráfico 2** Tiempo de gestación de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

En cuanto al trimestre de gestación las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: el 48% corresponde a las embarazadas que cursan el 3<sup>er</sup> trimestre; el 27% aquellas que cursan el segundo trimestre; 25% aquellas embarazadas que cursan el primer trimestre.

Número de embarazos	Nº de gestantes	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
0 a 1	40	0.425	42.5 ≈ 43
2 a 3	34	0.361	36
4 a mas	20	0.212	21
Total	94		100

**Tabla 6** Número de embarazos previos de gestantes que acudieron al Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

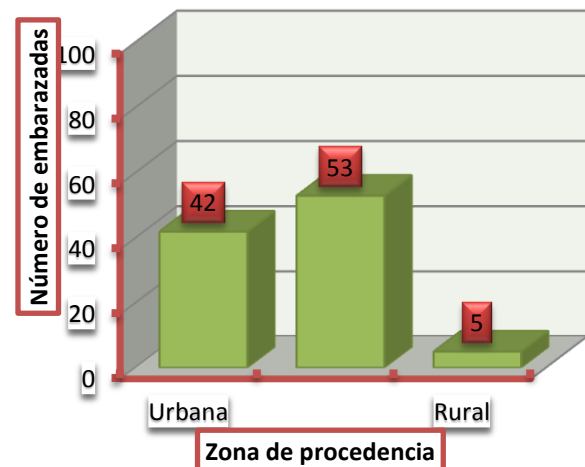


**Gráfico 3** Número de embarazos previos de gestantes que acudieron al Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

En cuanto a los embarazos previos, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 43% tuvo de 0 – 1 embarazos previos; un 36% tuvo de 2 – 4 embarazos previos, y aquellas que tuvieron más de 4 embarazos previos representan el 21%.

Zona de procedencia	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Urbana	39	0.4	41.5 ≈ 42
Peri-urbana	50	0.5	53
Rural	5	0.0	5
Total	94		100

**Tabla 7** Zona de procedencia de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

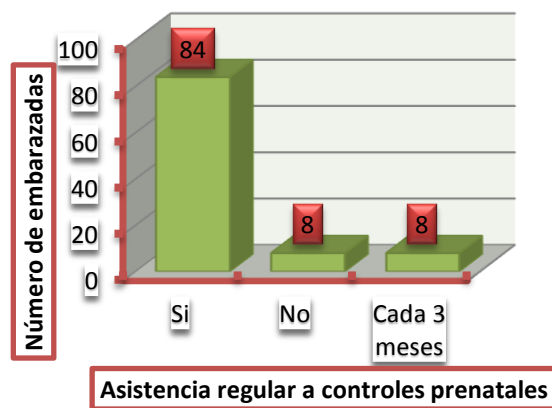


**Gráfico 4** Zona de procedencia de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

En cuanto a la zona de procedencia, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 53% proceden de la zona periurbana; un 45% proceden de la zona urbana; y un 2% son de procedencia del área rural.

Asistencia regular a controles prenatales	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Si	80	0.855	85.5 ≈ 86
No	7	0.074	7
Cada 3 meses	7	0.074	7
Total	94		100

**Tabla 8** Asistencia regular a controles prenatales de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

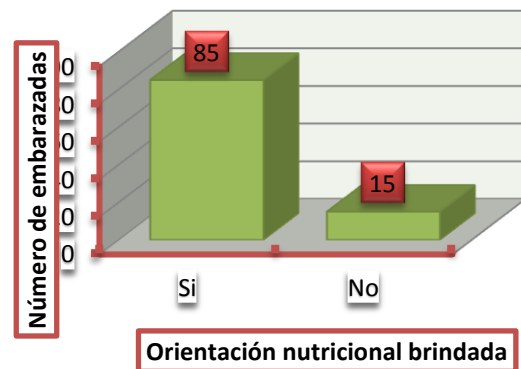


**Gráfico 5** Asistencia regular a controles prenatales de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Con respecto a la asistencia regular a los controles prenatales las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 84% asiste regularmente a los controles prenatales; un 8% asiste cada tres meses y un 8% que no asistió a ninguna consulta prenatal previa.

Orientación nutricional brindada	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Si	82	0.872	87
No	12	0.127	12.7 ≈ 13
Total	94		100

**Tabla 9** Orientación nutricional brindada a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

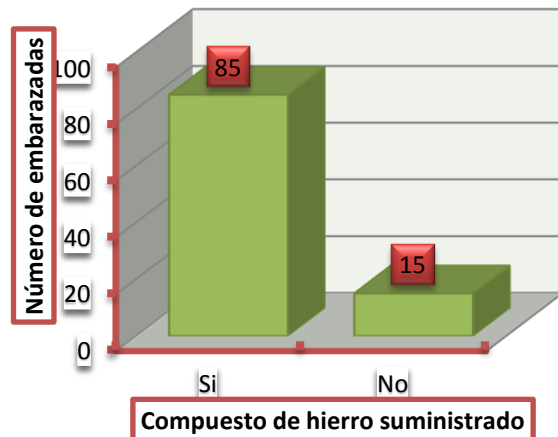


**Gráfico 6** Orientación nutricional brindada a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Con respecto a la orientación nutricional, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 85% de las embarazadas si recibió una orientación nutricional; mientras que un 15% no recibió orientación nutricional alguna.

Compuesto de hierro suministrado	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Si	82	0.872	87
No	12	0.127	12.7 ≈ 13
Total	94		100

**Tabla 10** Compuesto de hierro suministrado por el SUMI a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

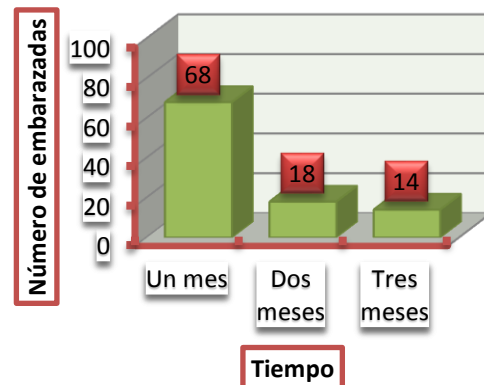


**Gráfico 7** Compuesto de hierro suministrado por el SUMI a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011.

Con respecto al compuesto de hierro suministrado, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 85% de las embarazadas recibió el compuesto de hierro suministrado; un 15% no recibió el compuesto de hierro suministrado.

Tiempo	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Un mes	39	0.475	47.5 ≈ 48
Dos meses	23	0.280	28
Tres meses	20	0.243	24
Total	82		100

**Tabla 11** Tiempo que tomó el compuesto de hierro suministrado por el SUMI a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

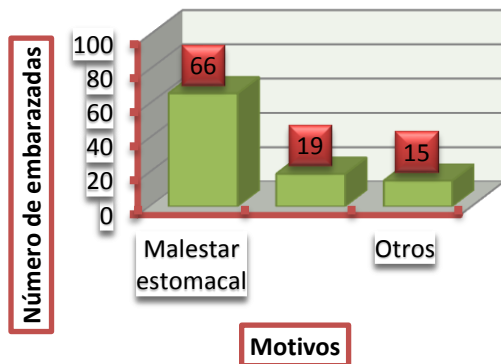


**Gráfico 8** Tiempo que tomó el compuesto de hierro suministrado por el SUMI a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Con respecto al tiempo que tomaron el compuesto de hierro suministrado, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes datos: de un total de 82 embarazadas que recibieron el tratamiento de hierro, el 39% solo cumplió un mes con el tratamiento, el 18% cumplió dos meses con el tratamiento, mientras que un 14% cumplió con los tres meses el tratamiento de hierro.

Motivos	N° de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Malestar estomacal	41	0.661	66
Estreñimiento	12	0.194	19
Otros	9	0.145	14.5 ≈ 15
Total	62		100

**Tabla 12** Motivos por el que suspendió el consumo del compuesto de hierro, suministrado por el SUMI a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

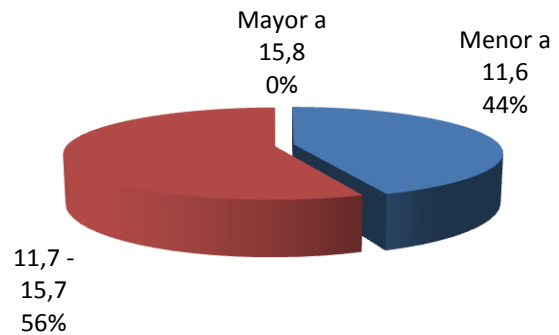


**Grafico 9** Motivos por el que suspendió el consumo del compuesto de hierro, suministrado por el SUMI a las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

De un total de 62 embarazadas que no llegaron a cumplir los tres meses del tratamiento con hierro, el 66% refirió malestar estomacal, el 19% estreñimiento y el 15% manifestó otras sintomatologías.

Concentración de hemoglobina G/DL	N° de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Menor A 11,6	41	0.436	43.6 ≈ 44
11,7 - 15,7	53	0.564	56
Mayor A 15,8	0	0	0
Total	94		100

**Tabla 13** Concentración de Hemoglobina (eng/dl) de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011



**Grafico 10** Concentración de Hemoglobina (eng/dl) de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Con respecto a la concentración de Hemoglobina, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 44% tiene concentración menor a 11,6 g/dl; un 56% presenta concentraciones normales entre 11,7 y 15,7 g/dl; y ninguna de las embarazadas presentan concentraciones mayores a 15,8 g/dl.

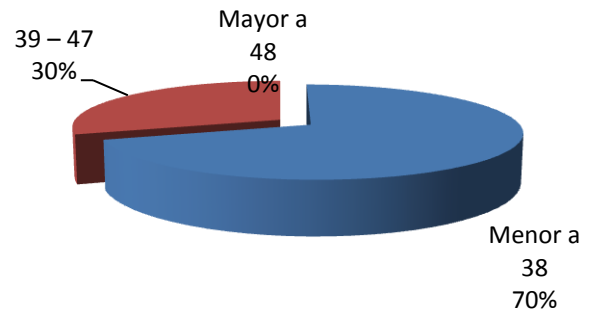
Datos Estadísticos	Hemoglobina
Validos	94 muestras
Mediana	11,6g/dl
Moda	11,8g/dl
Mínimo	8,1g/dl
Máximo	13,9g/dl

**Tabla 14** Datos estadísticos de la concentración de Hemoglobina de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre y octubre. Sucre 2011

A partir de la determinación de la concentración de hemoglobina, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 11,6 g/dl; un valor modal de 11,8 g/dl; un valor mínimo de 8,1 g/dl y un valor máximo de 13,9 g/dl.

Concentración de microhematocrito (%)	N° de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Menor a 38	72	0.766	76.6 ≈ 77
39-47	22	0.234	23.4 ≈ 24
Mayor a 48	0	0	0
Total	94		100

**Tabla 15** Microhematocrito (en %) de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011



**Gráfico 11** Microhematocrito (en %) de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Los resultados de la determinación del microhematocrito, reflejan que un 70% de las embarazadas presentan valores de referencia por debajo del 38% de la relación porcentual plasmática globular, un 30% de las embarazadas se encuentran dentro de los valores de referencia y no se encontraron embarazadas con valores por encima de los de referencia.

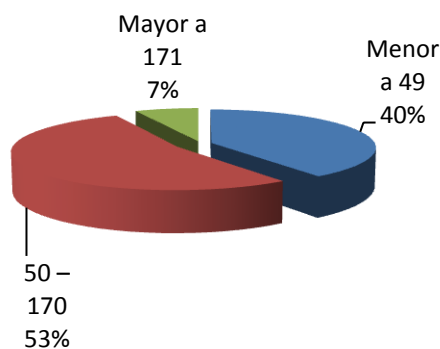
Medidas Descriptivas	Porcentaje de microhematocrito
Mediana	36 %
Moda	37 %
Mínimo	25%
Máximo	44%

**Tabla 16** Datos estadísticos del microhematocrito de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

A partir de la determinación del microhematocrito, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 36%; un valor modal de 37%; un valor mínimo de 25% y un valor máximo de 44%.

Concentración de hierro sérico en ug/dl	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Menor a 49	38	0.404	40
50 – 170	50	0.531	53
Mayor a 171	6	0.065	6.5 ≈ 7
TOTAL	94		100

**Tabla 17** Concentración de hierro sérico en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011



**Gráfico 12** Concentración de hierro sérico en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Con respecto a la concentración de hierro sérico, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 40% presentan concentración por debajo al de referencia; un 7% presenta concentraciones superiores y un 53% presenta concentraciones normales.

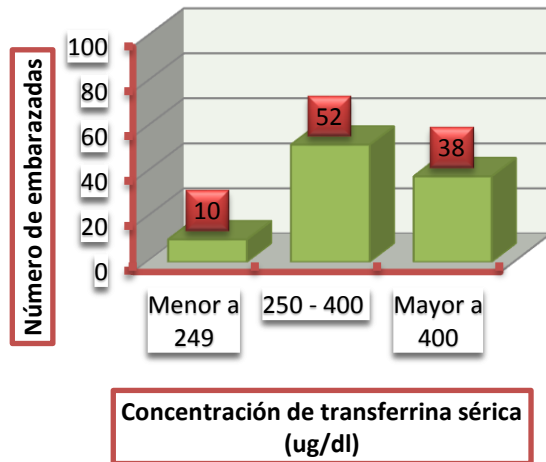
Medidas Descriptivas	Concentración de Hierro sérico
Mediana	59ug/dl
Moda	53ug/dl
Mínimo	28ug/dl
Máximo	221ug/dl

**Tabla 18** Datos estadísticos de la concentración de hierro sérico de las embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

A partir de la determinación del hierro sérico, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 59ug/dl; un valor modal de 53ug/dl; un valor mínimo de 28ug/dl y un valor máximo de 221ug/dl.

Concentración de transferrina sérica (UG/DL)	Nº de embarazadas	Fi	Fi %
Menor a 249	9	0.096	10
250- 400	49	0.521	52
Mayor a 400	36	0.383	38
Total	94		100

**Tabla 19** Concentración de transferrina sérica en (ug/dl) en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011



**Gráfico 13** Concentración de transferrina sérica en (ug/dl) en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

Con respecto a la concentración de transferrina sérica, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 38% presenta concentraciones elevadas; un 52% presentan concentraciones dentro de los valores de referencia y un 10% presenta concentraciones bajas de transferrina.

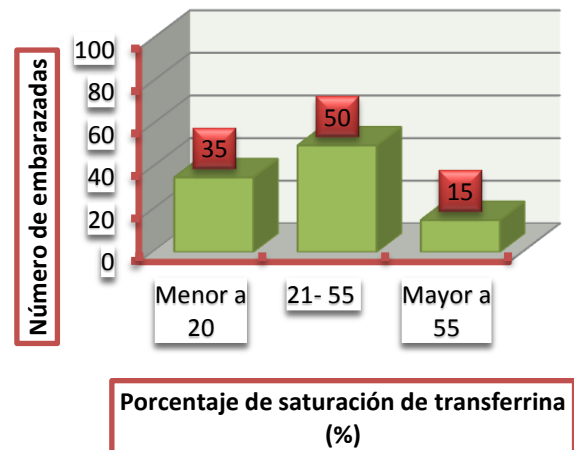
Medidas Descriptivas	Concentración Hemoglobina
Mediana	340ug/dl
Moda	254ug/dl
Mínimo	146ug/dl
Máximo	528ug/dl

**Tabla 20** Datos estadísticos de transferrina sérica en ug/dl en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

En la determinación de transferrina, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos:: muestras validas 94; una mediana de 340 ug/dl; un valor modal de 254 ug/dl; un valor mínimo de 146 ug/dl y un valor máximo de 528 ug/dl.

Porcentaje de saturación de transferrina (%)	Nº de embarazadas	H <sub>i</sub>	H <sub>i</sub> %
Menor a 20	33	0.351	35
21- 55	47	0.500	50
Mayor a 55	14	0.149	14 ≈ 15
Total	94		100

**Tabla 21** Porcentaje de saturación de transferrina en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011



**Gráfico 14** Porcentaje de saturación de transferrina en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011

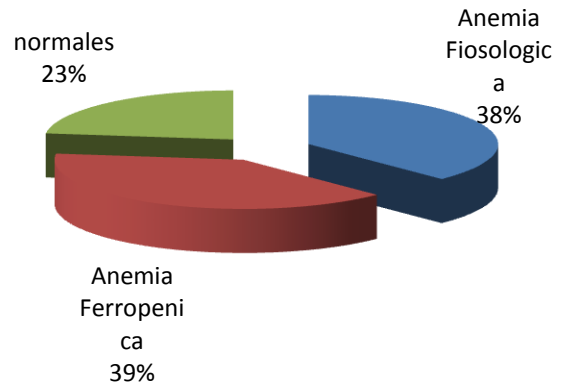
Con respecto a la capacidad de saturación de transferrina, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 35% presenta una saturación baja, un 50% de embarazadas se encuentran con una saturación normal y un 15% con una saturación mayor a la normal.



Medidas Descriptivas	Porcentaje de saturación de transferrina
Mediana	36 %
Moda	24 %
Mínimo	13 %
Máximo	64 %

**Tabla 22** Datos estadísticos del porcentaje de saturación de transferrina en embarazadas atendidas en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de Septiembre a Octubre. Sucre 2011

En la determinación de la capacidad de saturación de transferrina, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: unamediana de 36%, un valor modal de 254 ug/dl., un mínimo de 146 ug/dl y un máximo de 528 ug/dl.



**Grafico 15** Determinación de anemia fisiológica, anemia ferropénica y frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas atendida en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de Septiembre a Octubre. Sucre 2011

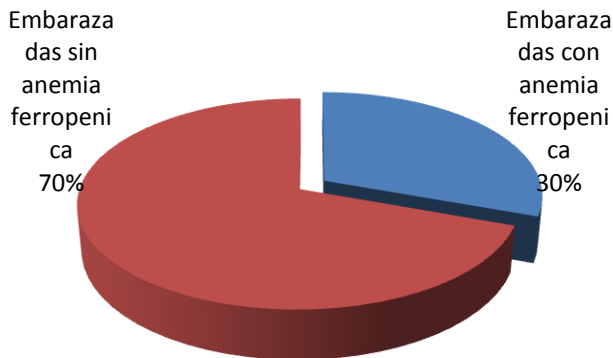
En este estudio observamos que de 72 embarazadas con niveles bajos de microhematocrito, 37 presentaron anemia ferropénica y 35 presentaron anemia fisiológica y 22 embarazadas no reflejaron alteración en los estudios realizados. Siendo la frecuencia de anemia ferropénica del 39,4%.

	% de embarazadas que presentaron alteraciones.	Promedio Del % de embarazadas que presentaron alteraciones.	% de embarazadas que presentaron descenso en el Microhematocrito o a.	% de Embarazadas con anemia fisiológica.	% de Embarazadas con anemia ferropénica.	% que no observaron alteración ferropénica en los estudios realizados.	Frecuencia de anemia ferropénica.
Hemoglobina	44	39,4	77	37,6	39,4	23	39,4
Hierro sérico	40						
Transferrina	38						
Sat. de transferrina	35						

**Tabla 23** Determinación de anemia fisiológica, anemia ferropénica y frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas atendida en el Centro de Salud “San Roque” durante los meses de Septiembre a Octubre. Sucre 2011

Nº de embarazadas	Embarazadas con anemia ferropénica	Embarazadas sin anemia ferropénica
82	25	57

**Tabla 24** Presencia de anemia ferropénica en embarazadas que recibieron el compuesto de hierro suministrado por el SUMI

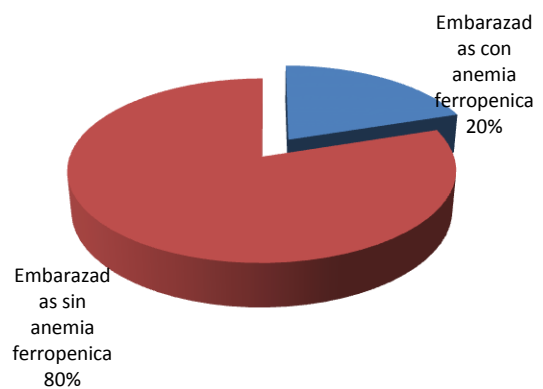


**Gráfico 16** Presencia de anemia ferropénica en embarazadas que recibieron el compuesto de hierro suministrado por el SUMI

Con respecto a la presencia de anemia ferropénica en embarazadas que recibieron el compuesto de hierro suministrado por el SUMI, se observó que el 30% de las embarazadas presentan anemia ferropénica.

N° de embarazadas	Embarazadas con anemia ferropénica	Embarazadas sin anemia ferropénica
20	4	16

**Tabla 25** Presencia de anemia ferropénica en embarazadas que cumplieron los tres meses de tratamiento con el compuesto de hierro suministrado por el SUMI



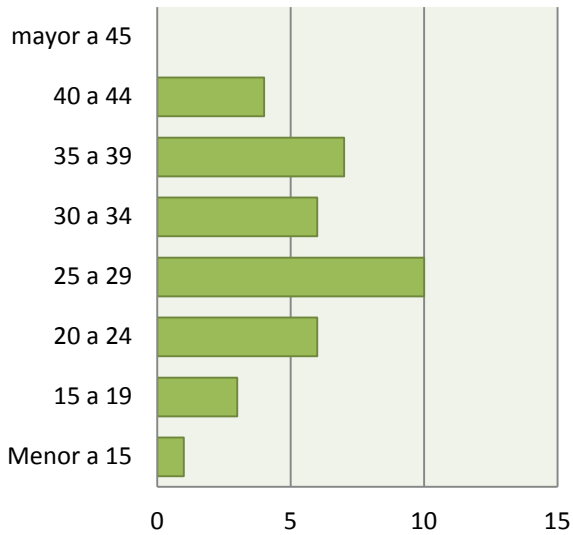
**Gráfico 17** Presencia de anemia ferropénica en embarazadas que cumplieron los tres meses de tratamiento con el compuesto de hierro suministrado por el SUMI

Con respecto a la presencia de anemia ferropénica en embarazadas que cumplieron los tres meses de tratamiento con el compuesto de hierro suministrado por el SUMI, se observó que el 80% de las embarazadas no presentó anemia ferropénica y un 20% si presentó anemia pese al tratamiento.

**Análisis comparativo**

Edad	Menor a 15	15 a 19	20 a 24	25 a 29	30 a 34	35 a 39	40 a 44	Mayor a 45	Total
Total	1	3	6	10	6	7	4	0	37

**Tabla 26** Comparación por edad en embarazadas anémicas

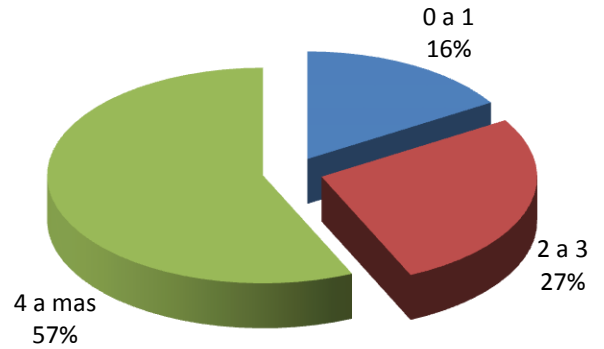


**Gráfico 18** Comparación por edad en embarazadas anémicas

De acuerdo al total de anémicas reportadas (37), 15 embarazadas comprendidas entre los 25 a 29 años de edad fueron las que en mayor número presentaron anemia ferropénica, seguido de las comprendidas entre los 30 a 34 años de edad con un número de 11 embarazadas, no encontrándose embarazadas mayores a 45 años con anemia.

Número De embarazos	0 A 1 embarazos	2 A 3 embarazos	4 A mas embarazos	Total
Total	6	10	21	37

**Tabla 27** Comparación de acuerdo a la presencia de anémicasferropénica con el número de embarazos

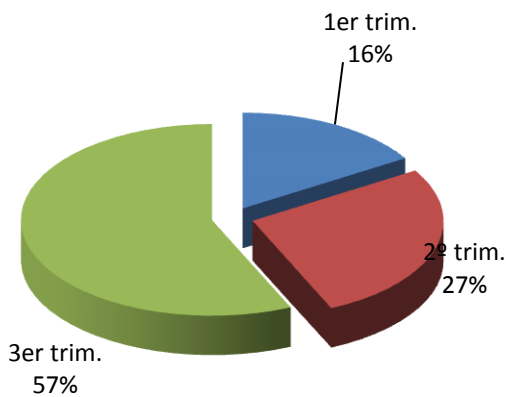


**Gráfico 19** Comparación de acuerdo a la presencia de anémicas ferropénica con el número de embarazos

Con respecto a la comparación de acuerdo a la presencia de anémicas ferropénica con el número de embarazos, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: 0 a 1 embarazos el 16%; de 2 a 3 embarazos el 27%; de 4 a más embarazos el 57%.

1er trimestre	2do trimestre	3er trimestre	Total
6	10	21	37

**Tabla 28** Comparación de acuerdo a la presencia de anémicas ferropénica con relación al trimestre de gestación

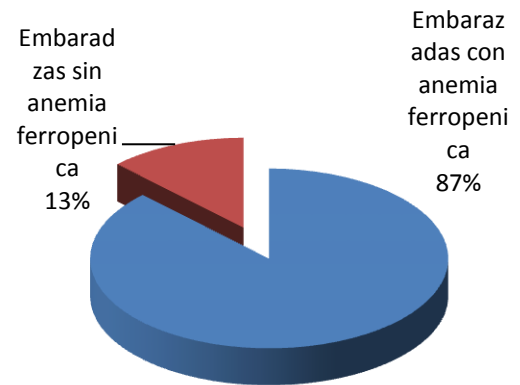


**Gráfico 20** Comparación de acuerdo a la presencia de anémicas ferropénica con relación al trimestre de gestación

Con respecto a la comparación de acuerdo a la presencia de anémicas ferropénica con el número de embarazos, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 25% se da en el primer trimestre de embarazos; un 15% se da en el segundo trimestre de embarazo; un 60% a nivel del tercer trimestre de gestación.

Número de abortos	Embarazadas con anemia ferropénica	Embarazadas sin anemia ferropénica	Número de embarazadas
1 a 2	9	2	11
3 a 4	5	0	5
Total	14	2	16

**Tabla 29** Relación de la presencia de anémica ferropénica respecto al número de abortos



**Gráfico 21** Relación de la presencia de anémica ferropénica respecto al número de abortos

Con respecto al número de abortos, las embarazadas bajo estudio mostraron los siguientes porcentajes: un 87% presento anemia ferropénica; un 13% no presento anemia ferropénica

**Analisis y discusión**

Al analizar los resultados obtenidos en el presente estudio, se estableció que en mayor medida las embarazadas que asisten al centro de salud San Roque, se encuentran comprendidas entre los 20 y 24 años de edad, encontrándose la mayoría de las embarazadas en el tercer trimestre de gestación. Con respecto al número de embarazos, una mayoría refirió encontrarse en el grupo de 0 -1 embarazos previos, establecidos para este estudio.

De acuerdo al estudio realizado, se observó que al centro de salud San Roque, acuden en mayor porcentaje las embarazadas del área periurbana de la ciudad, por tal razón los resultados reflejan un alto índice de procedencia del área periurbana y menor porcentaje del área rural, se sospechándose que por este motivo no llegan a realizarse los controles desde el primer trimestre de gestación, además de no recibiendo una orientación nutricional adecuada y aun menos la recepción del compuesto de hierro, con la finalidad de prevenir las depleciones de hierro causadas por el embarazo.

Este estudio nos permitió establecer que no todas las embarazadas pese a recibir una orientación nutricional adecuada y de recibir el tratamiento con el compuesto de hierro, llegan a reemplazar las pérdidas de hierro, hecho que se evidenció en la práctica laboratorial.

Debemos resaltar que las embarazadas dejaron el tratamiento con el compuesto de hierro debido al malestar estomacal causado, además del retrogusto dado por el sabor metálico, causando en algunas embarazadas náuseas, se debe mencionar además el descuido y la falta de interés de la gestante para el cumplimiento con el tratamiento. Se estableció que un porcentaje elevado de embarazadas presentaron niveles del microhematocrito bajo en comparación con las concentraciones de hemoglobina, hierro, transferrina y saturación de transferrina, pero es de recordar que el microhematocrito se llega también a ver disminuido en la anemia fisiológica.

Para establecer el número real de embarazadas con anemia ferropénicas basamos en la determinación del promedio de embarazadas que reflejan alteraciones en los parámetros que se encuentran directamente relacionados con la deficiencia de hierro (hemoglobina, hierro sérico, transferrina y saturación de transferrina) y en base a eso se pudo establecer restando el promedio obtenido del total de pacientes con microhematocrito bajo, estableciendo que el 47.8% de las embarazadas presentan anemia fisiológica; el 39.4% presenta anemia ferropénica y el restante 12.8% no presenta alteraciones, esto debido a encontrarse en las primeras semanas de embarazo.

De las embarazadas con anemia se establece que aquellas que se encuentran entre las edades de 25 a 29 años de edad son las que presentan una mayor frecuencia de anemia ferropénica, además de reportaron un mayor número de embarazos y un mayor número de abortos con relación a los otros grupos etáreos.

Con relación a otros trabajos realizados en el departamento de Chuquisaca, con embarazadas, se pudo establecer una similitud en la frecuencia del presente estudio y la prevalencia que se mostró en estudio de similar magnitud.

### Conclusiones

Con referencia al objetivo general se logró establecer que la frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que asisten al centro de Salud San Roque durante los meses de septiembre a octubre, Sucre 2011 fue del 39.4%.

Se relacionó las concentraciones de hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina de acuerdo al tiempo de gestación; donde se observó que aquellas embarazadas que presentaron anemia ferropénica, un porcentaje elevado se encontraban cursando el tercer trimestre de gestación.

Se relacionó las concentraciones de hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina de acuerdo a la edad de las embarazadas; donde se observó que aquellas embarazadas que presentan anemia ferropénica, un porcentaje elevado se encontraban entre las edades de 25 a 29 años.

Se relacionó las concentraciones de hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina de acuerdo número de embarazos, observándose en aquellas embarazadas que tuvieron de dos a más embarazos previos, una mayor frecuencia de anemia ferropénica, con respecto a embarazadas que cursaron con un embarazo previo al momento del estudio realizado.

Se relacionó las concentraciones de hemoglobina, microhematocrito, hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina de acuerdo al número de abortos, observándose la presencia de anemia ferropénica en aquellas embarazadas que presentaron un número mayor de abortos.

Se observó que sólo el 19% de las embarazadas que acudieron al centro de salud San Roque en los meses de septiembre a octubre, sucre 2011, llegó a cumplir con el tratamiento del compuesto de hierro suministrado, además se observó que 4 embarazadas llegaron a presentar anemia ferropénica pese al cumplimiento de los 3 meses recomendados por el SUMI.

Se pudo establecer mediante la determinación del microhematocrito que el 47.8% de las embarazadas que asistieron al centro de salud San Roque durante los meses de septiembre a octubre, sucre 2011, presentaron anemia fisiológica; el 12.8% de embarazadas no llegaron a manifestar alteraciones, en las determinaciones realizadas.

A partir de la determinación de la concentración de hemoglobina, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 11,6 g/dl; un valor modal de 11,8 g/dl; un valor mínimo de 8,1 g/dl y un valor máximo de 13,9 g/dl.

En cuanto a la determinación del microhematocrito, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 36%; un valor modal de 37%; un valor mínimo de 25% y un valor máximo de 44%.

Para la determinación del hierro sérico, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 59 ug/dl; un valor modal de 53 ug/dl; un valor mínimo de 28 ug/dl y un valor máximo de 221 ug/dl.

En la determinación de transferrina, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: muestras validas 94; una mediana de 340 ug/dl; un valor modal de 254 ug/dl; un valor mínimo de 146 ug/dl y un valor máximo de 528 ug/dl.

Para la determinación de la capacidad de saturación de transferrina, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos: una mediana de 36%, un valor modal de 254 ug/dl., un mínimo de 146 ug/dl y un máximo de 528 ug/dl.

Al momento de realizar la calibración de los equipos, se verificó que las reacciones mantienen la linealidad del método aplicado y que los valores de la calibración fueron aquellos expresados por los prospectos que vienen insertos en los kits tanto de hemoglobina como de hierro sérico.

Se evaluó el correcto funcionamiento de los sistemas analíticos con suero de control normal, para su valoración se confrontó con los valores esperados, obteniendo una concentración suero control normal para hierro sérico de 228 ug/dl, dato contemplado dentro de 1ds con respecto al valor medio de 222ug/dl de la tabla AIRONE 200/200 RA-METABOLITOS de la línea de Winner.

Se observó que gracias a los métodos de control de calidad, tanto internos como el uso de suero control normal y estándares provistos en los kits nos permitió la determinación de la precisión del 96.10% y una exactitud del 95.77%; además del empleo de controles externos como las determinaciones de microhematocrito y hemoglobina por el contador automatizado del Hospital Maternológico “Jaime Sánchez Porcel” que reportaron datos fidedignos, replicando los valores obtenidos en los ambientes de laboratorio de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca.

### Recomendaciones

Socializar el presente trabajo entre todos los centros médicos para que en función a la magnitud de este problema social se establezca como examen de rutinario la determinación de hierro sérico, transferrina y porcentaje de saturación de transferrina mediante las técnicas mencionadas anteriormente.

Incentivar a que la Carrera de Bioquímica realice programas de extensión a los diferentes centros de salud para la concientización y prevención sobre los riesgos para la salud que provoca la anemia ferropénica, de ésta manera elevar la calidad de vida de nuestro entorno social.

Incentivar a las embarazadas a asistir con regularidad a sus controles pre-natales, mejorar sus hábitos alimenticios, haciendo un hincapié en los riegos que la anemia ferropénica puede causar en el crecimiento y desarrollo intrauterino del feto.

Por otra parte se debe buscar la implementación de campañas de administración de sales de hierro o programas con el mismo fin tomando en cuenta como elemento objetivo la importancia de la carencia de este elemento en la etapa gestacional, ya que una madre con cantidades adecuadas de hierro garantiza el hierro necesario para los primeros de vida de su niño.

Se sugiere tomar en cuenta los criterios de conformidad de muestra, respecto al horario de toma de muestra, porque las determinaciones de hierro no sufren alteraciones si la muestra es tomada en la mañana.

Se sugiere el empleo del sistema vacutainer para la realización de un trabajo óptimo en las determinaciones de laboratorio.

Se sugiere continuar este tipo de estudio, ya que la determinación de hemoglobina, hierro sérico, transferrina y saturación de transferrina no estarían completas sin antes realizar las determinaciones de ferritina, volumen corpuscular medio (VCM) concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y protoporfirina libre eritrocitaria.

Se recomienda realizar la técnica de Inmuno difusión Radial (IDR) que es considerada como la prueba de oro para la cuantificación de proteínas por lo que su aplicación en laboratorio debe ser de rutina.

Se sugiere que para los programas de control de calidad interno se realice el empleo de sueros control normal y sueros control patológico, además de contar con un programa anual de mantenimiento y control preventivo de los aparatos y equipos de laboratorio.

Se sugiere que para las determinaciones en laboratorio de hierro se realice el lavado de materiales con HCl 2mol/L dejando reposar por 12 horas y luego proceder al enjuagado con agua destilada libre de hierro.

### Agradecimientos

El investigador agradece a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

### Referencias

A. Goic, G. Chamorro, H. Reyes. *Semiología medica*. 2ª edición: editorial Mediterráneo.

Alonso A. Hemoterapia. *Arch rol de enf* 2009 Jun 1;5(25):27-30

Ausell JE. *Manual de hemostasia enfoque diagnóstico y terapéutico*. Barcelona: Editorial Salvat; 2009.

Bedregal F, compilador. *Hematología: la sangre*. 2<sup>th</sup> ed. Sucre, Bolivia: Editorial Bolívar; 2006

Blajchman M, Klein H. *Anemia and blood transfusion in critically ill patients*. New York, NY: AcademicPress; 2009.

Bolivia. Ministerio de Salud y Deportes *Anuario estadístico en salud 2010*. /Ministerio de Salud y Deportes. 23a ed. La Paz: Grupo Design, 2011. 158p.: Ilus. (Serie: Documentos Técnico-Normativos No.192)

Botero Jaime U, et al. *Texto integrado de hematología y ginecología*. 2<sup>th</sup> ed. Editorial Panamericana; 2009. Pág. 303-304

Calderón AS, compiladora. *Guía práctica de técnicas de hematología*. Sucre, Bolivia: Editorial Universitaria.

Cascantes V. El receptor soluble de la transferrina: Estudio clínico de nuevo marcador del metabolismo del hierro. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. [www.ucm.es/BUM/tesis/19972010/D/1/D1038101.pdf](http://www.ucm.es/BUM/tesis/19972010/D/1/D1038101.pdf) (fecha de acceso 19 de noviembre de 2011).

Castillo R, Reyes A, González M, Machado M. Transporte de hierro en vertebrados. *Rev Cubana Ortod [Seriada en línea]* 2001; 16(1): [23 páginas]. Disponible en URL:<http://bvs.sld.cu/revistas/ord/vol16101/ord03101.Transferrina>

Claros F, compilador. *Fisiología humana: la sangre*. Sucre, Bolivia: Editorial Universitaria; 2008.

Coronel C. Anemia en gestantes: un problema con solución familiar. *Rev Cubana Gest [Seriada en línea]* 2010 [Citado 2010 jul 2]; 23(7):5-10. Disponible en: URL:[http://bvs.sld.cu/revistas/gest/vol73\\_1\\_01/ped01100.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/gest/vol73_1_01/ped01100.pdf)

Dacie, Lewis. *Hematología práctica*, 10<sup>th</sup> ed. México: Editorial Elsevier; 2009.

PEREZ Mauricio. Frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud "san roque" en los meses de septiembre a octubre. Sucre 2011. *Revista de Energía Química y Física*, 2014.



Daza J. Determinación de hierro, capacidad de fijación de hierro y transferrina en embarazadas hospital gineco-obstetrico y san pedro Claver sucre- 2008. [Tesis de Grado]. Sucre, Bolivia: Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca; 2008

De Mesa, José; Gisbert, Teresa; Mesa, Carlos (1998 [8ª Ed. 2008]). Historia de Bolivia. La Paz: Gisbert.

Documentos técnicos y normativa vigente. Ministerio de Salud y Deportes, Programa Nacional de Fortificación de Alimentos.

Espinos D, Álvarez JL. Fisiología de la serie eritrocítica y clasificación de las anemias. Madrid: Editorial Paraninfo; 2009.

Espinosa D. Absorción de Hierro. Art Med Tripod.2009: Ago 1-6.Disponible en: <http://medicina4.tripod.com/apuntes/AnemiaFerropenica.pdf>

Estadísticas indicadores socio demográficos (en línea) Bolivia: Diciembre 2009 instituto nacional de estadísticas (INE) URL disponible en:

Fuentes X, Castiñeiras M, Ferre M. Codex del laboratorio clínico. Madrid: Editorial Elsevier; 2010. p. 62-76. en:<http://www.obstare.com/varios/revistas/Anemia.pdf>

Gómez I. Deficiencia de hierro y ácido fólico en mujeres en edad fértil. Rev Cubana Gest [Seriada en línea] 2001 [Citado 2001Ene 1]; 8(1):5-10. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol14\\_3\\_98/hih03398.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol14_3_98/hih03398.htm)

Goodman y Gilman las bases farmacológicas de la terapéutica /duodécima edición; editorial mexicana; México DF 2010 pag 1449 – 1458.

Hernández M, Gonzales G. Anemia ferropénica y anemia de las enfermedades crónicas. Madrid: Editorial Paraninfo; 2010.

Larraín M, Oscra L, Arnés S, García L. MSPS y previsión seguro básico de salud, Unicef reforma de salud. Editorial Unicef; 2005.pag 2, 3, 7, 9, 10.

Mazzie, Cordero d, Mejía M. Estrategia AIEPI en Bolivia RevSoc.Bol Ped1997; 36:106-8

Moore M. Investigaciones en laboratorio del metabolismo del hierro. New York: Editorial McGraw-Hill; 2002. p. 93-113

Morales Y. Wiener La1.Vademécum SAIC-2008; 7<sup>th</sup>ed: Editorial MS y AS Rosario-Argentina; 2010. Pág.- 56-57.

Muñoz J. Fundamentos y técnicas de análisis hematológicos y citológicos 3<sup>th</sup> ed. Barcelona: Editorial Panamericana; 2010

Olivares M. Consecuencias de la deficiencia de hierro. Art Cielo Defhier [Seriada en línea] 2002 [Citado 2002 Jun 19]; 7(17):51-82.: [132 páginas]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s071775182003000300002&script=sciarttext>

Párroco Zalles A. La gracia de dios en nuestros corazones nos manifiesta el su presencia con el trabajo de sus siervos. ArchParS.Roque2010 Jun 30; Ed 2: pag1-7.

Polo C, Stella A. Capacidad total de fijación de hierro.ArchBarMed2009 Jun 1; 2(28):17-22.

Polo C, Stella A. Transferrina en el metabolismo de transporte.ArchBio2009 Sept 1; 6(62):9-12.

References/Bibliographic. Vancouver Style. Quick Guide-How to use it. 2010; [19 páginas]. Disponible en: URL:<http://www.library.uq.edu.au/training/citation/vancow.pdf>. Consultado Marzo 27, 2010.

Rodak, Hematología y aplicaciones clínicas. Argentina: 2da ed. Editorial Panamericana; 2010 pág. 214-219.

Ruiz A. Fundamentos de hematología. 4<sup>th</sup>ed. México: Editorial Panamericana; 2009. p. 165-185.

Rutland Gimferrer, Ayats, et al. Licenciatura hematólogica. Serie manuales clínicos e interpretación para licenciatura y residencia. Barcelona: Editorial Salvat; 2009. [386 páginas].

Sanz J. Esa necesaria una suplementación rutinaria de hierro. Rev. Obstare Anem[Seriada en línea] 2009 [Citado 2009Jul 16]; 13(8):15-22.): [27 páginas].

Sanz S. Hematología clínica. 2<sup>th</sup>ed. España: Editorial Amigos del libro; 1993.

Smith Trier. Fisiopatología. New York, NY: Editorial McGraw Hill; 2010.

Swan HT, Jowett GH: Treatment iron deficiency with ferrous fumarate: assessment by a statistically accurate method. Br Med J 2010; 2:782-787

## Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010

SANDOVAL-Claudia†

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence N° 51, Sucre- Bolivia.*

Recibido 15 de Enero, 2014; Aceptado 23 de Junio, 2014

### Resumen

Una de las formas utilizadas hoy en día para los grupos humanos describen la caracterización de marcadores genéticos. Estos marcadores genéticos identifican humano o nos permiten diferenciar entre las comunidades indígenas y nos dan pistas sobre los ancestros de las comunidades de hoy son grupos. La mayoría utiliza marcadores para estudiar la estructura genética de las poblaciones, análisis de fácil y económica, son los grupos sanguíneos. Siendo el ABO y Rh más común, conocida en todo el mundo, son excelente sistema para entender las características de las poblaciones humanas y de inferir acerca de sus relaciones con otros grupos relacionados.

**Marcador genético, grupos humanos, grupo sanguíneo**

### Abstract

One of the ways used today to human groups describe the characterization of genetic markers. These genetic markers identify human or allow us to differentiate between indigenous communities and give us clues as to the ancestors of today's communities are groups. Most used markers to study the genetic structure of populations, easy and economic analysis, are blood groups. Being the most common ABO and Rh, known worldwide, are excellent system to understand the characteristics of human populations and to infer about their relationships with other related groups. Nowadays there are few studies on the distribution of antigens and antibodies of the ABO system in the original peoples of Bolivia. It was evident that the ethnic Weenhayek 100% of the population belongs to blood group O and having a total absence of blood group A and B.

**Genetic markers, human groups, blood group**

**Citación:** SANDOVAL Claudia. Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010. Revista de Energía Química y Física .2014, 1-1:60-95

† Investigador contribuyendo como primer autor

## Introducción

El sistema sanguíneo ABO desde su descubrimiento hasta nuestros días sigue siendo el sistema antigénico más importante para la transfusión sanguínea, en los trasplantes de órganos sólidos y algunos otros procesos patológicos. Es el único sistema en el cual los anticuerpos recíprocos (o antitéticos) están uniforme y predeciblemente presentes en el suero de las personas que no han sido expuestas a otros eritrocitos humanos y se denominan anticuerpos naturales. Estos son los resultados de la respuesta inmune a la exposición de los antígenos, aunque no se conoce el momento y circunstancia en que esto ocurre porque se encuentran en la naturaleza o medio ambiente que nos rodea.

Se sabe que los latinoamericanos, son el producto de un mestizaje de individuos de diferentes razas. Las investigaciones sobre aspectos genéticos, aportan amplio respaldo acerca de las poblaciones básicas, que si bien varían en proporción están presentes en cada uno de los países americanos.

Una de las maneras utilizadas hoy para describir grupos humanos es la caracterización de marcadores genéticos. Estos marcadores son inmunoglobulinas proteínicas que se encuentran en el suero de todos los humanos, sustancias que identifican los glóbulos rojos (Grupos sanguíneos), o específicamente el hallazgo de varios genes en nuestro genoma.

La característica común de todos estos marcadores es que presentan varias formas de cada uno (polimorfismo) lo que permite encontrar diferencias en las frecuencias de cada forma entre individuos, familias, grupos o poblaciones humanas.

En resumen, estos marcadores genéticos identifican los grupos humanos o bien nos permiten diferenciar entre las comunidades indígenas y nos dan pistas de cuáles son los ancestros de las comunidades actuales.

Los marcadores más usados para estudiar la estructura genética de las poblaciones, por su fácil y económico análisis, son los grupos sanguíneos. Siendo los más comunes el sistema ABO y el sistema Rh, conocidos por todo el mundo, son excelentes para comprender las características de las poblaciones humanas y poder inferir sobre sus relaciones con otros grupos afines.

En la actualidad existen pocos estudios realizados sobre la distribución de antígenos y anticuerpos del sistema ABO en las etnias originarias de Bolivia.

Como objetivo principal es determinar los Antígenos eritrocitarios del Sistema ABO y Rh

## Planteamiento del problema

¿Cuál será la frecuencia de antígenos eritrocitarios del grupo sanguíneo ABO y el antígeno (D) en la etnia weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano?

## Objeto de estudio

Antígenos eritrocitarios del Sistema ABO y Rh.

## Campo de acción

Frecuencia de los antígenos eritrocitarios del grupo sanguíneo ABO y antígeno (D) en la etnia weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano.

### Justificación

Se tiene información del sistema ABO de casi todas las poblaciones del mundo debido a su importancia transfusional. Estudios realizados en poblaciones, han demostrado que los Amerindios se caracterizan por un débil polimorfismo para muchos de los sistemas sanguíneos, en relación al sistema ABO se observa la mayor frecuencia poblacional de individuos pertenecientes al grupo O, sobre todo en su población multiétnica, razón por lo cual el presente estudio pretende aportar determinando la frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y Rh en la etnia Weenhayek o maticos, que viven en el margen derecho del río Pilcomayo, en el Chaco Boliviano, se escogió a esta etnia debido a las características de su forma de vida y la falta de información sobre la frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y sistema Rh, en esta población. Estos individuos constantemente están sometidos a las inclemencias de la naturaleza, y por las características de su hábitat se encuentran en peligro de extinción, hecho que exige contar con una información fehaciente sobre el polimorfismo en relación al sistema ABO y sistema Rh.

### Objetivos

#### General

”Determinar la frecuencia de antígenos eritrocitarios del grupo sanguíneo ABO y antígeno (D), en la etnia weenhayek o maticos, asentada en el chaco boliviano Sucre 2010”

#### Específicos

- Tipificar el grupo sanguíneo ABO estableciendo su frecuencia en la población a estudiar.

- Caracterizar la distribución del grupo sanguíneo ABO según edad y sexo.
- Tipificar el antígeno (D), del sistema Rh, estableciendo su frecuencia en la población a estudiar.
- Caracterizar la distribución del antígeno (D), del sistema Rh según edad y sexo.

### Hipótesis

Los antígenos eritrocitarios del sistema ABO y sistema Rh en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano tiene un escaso polimorfismo, porque se trata de una etnia etnocéntrica

### Diseño Metodológico

En el ámbito del diseño metodológico se utilizaron métodos y técnicas necesarias para el cumplimiento de los objetivos deseados, como son los métodos teóricos y empíricos.

Entre los métodos teóricos se utilizó, el método de análisis – síntesis permitió obtener las principales características teóricas sobre los antígenos eritrocitarios del sistema ABO y sistema Rh, así mismo otro de los métodos utilizados fue el inductivo- deductivo este método permitió también la interpretación de los resultados de laboratorio a partir del conocimiento general hacia lo específico, partiendo del estudio del conocimiento en el ámbito mundial sobre el sistema ABO y sistema Rh, para luego hacer el estudio específicamente en la localidad donde habita la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano.

Por otro lado se utilizaron métodos empíricos dentro de estos: la encuesta, mediante un cuestionario el cual fue dirigido directamente a la investigación, dicha encuesta se realiza en forma directa de acuerdo al problema planteado y tema de investigación presentado, el objetivo de la aplicación del cuestionario ha sido recabar datos fidedignos sobre edad y sexo, de los habitantes de la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano.

Así mismo se utilizaron técnicas de laboratorio, entre ellas se tiene dos técnicas de diagnóstico, la técnica en placa y la técnica en tubo. El cuerpo de la tesis está estructurado por la introducción, en la que se presenta los lineamientos del trabajo de tesis, el capítulo I en el que se presenta el marco contextual el capítulo II donde se fundamenta teóricamente acerca de los sistemas ABO y Rh, un capítulo III, en el que se presenta el diseño metodológico para lograr el objetivo general, un capítulo IV donde se presenta los resultados de la presente investigación y finalmente se tiene las conclusiones y recomendaciones.

## Marco Contextual

### Situación general de Bolivia

Bolivia es un estado plurinacional, ubicado en la parte central de Sud América, con una división política en 9 gobernaciones, distribuidos en tres regiones claramente definidas: llanos, altiplano y valles.

Tiene una población de 8.274.325 de acuerdo al último censo (2001), donde un 31% de la población se auto identifica como Quechua, un 25% como Aymará, 6% como Guaraníes o perteneciente a alguno de los 32 grupos étnicos minoritarios, demostrando la gran diversidad étnica que presenta Bolivia.

El 60% de la población es menor de 25 años y sólo el 7% es mayor de 65 años, la esperanza de vida al nacer, para ambos sexos, es de 63.6 años. En el periodo 2000 -2005, la tasa bruta de mortalidad estimada es de 8.2 muertes por mil habitantes (INECELADE 2004).

### Sistema de salud en Bolivia

El sistema de salud boliviano comprende los sub sectores: público, de seguridad social, privado y la medicina tradicional.

El sistema de salud consigna cuatro niveles de gestión y tres niveles de atención. Los niveles de gestión responden a las dimensiones: nacional, departamental, municipal y local o del establecimiento de salud. Los niveles de atención están estructurados según la capacidad resolutive de los servicios, el primer nivel de atención corresponde a la atención ambulatoria, el segundo nivel de atención con hospitales generales (especialidades básicas) y el tercer nivel de atención con hospitales de especialidades. El año 2002 se registraron 3021 establecimientos en el sistema de salud, 2345 pertenecientes al sector público, 324 a la seguridad social, 173 a organizaciones no gubernamentales (ONG) incluida la Iglesia y 179 a establecimientos registrados del sector privado.

### Chuquisaca

El departamento de Chuquisaca se halla situado al Sur del Estado Boliviano, en la región subandina, región intermedia entre el altiplano y los llanos orientales. Chuquisaca tiene un clima templado en los valles del norte, centro y sudoeste y un clima cálido en los chacos, situados en las zonas del noreste y este del departamento.

De acuerdo al censo del año 2001, la población de Chuquisaca alcanzó a 531.522 habitantes, distribuidos, en área urbana el 41.04% y en área rural el 58.96%, con una densidad poblacional de 10,32 habitantes por km<sup>2</sup>, superior a la densidad poblacional nacional. El 53,70% de los habitantes en Chuquisaca es menor de 21 años de edad, la población adulta que oscila entre 21 y 64 años corresponde a 40,28%, mientras que la población adulto mayor es de 6,02%.

En cuanto a los establecimientos de salud el 2001 Chuquisaca contaba con 296 establecimientos; 83,78% correspondía al sub sector público y el restante 16,22% a establecimientos dependientes de la Seguridad Social, Organismos Privados y Organismos No Gubernamentales en todos los niveles de atención.

El departamento de Chuquisaca tiene una extensión 51.524 Km<sup>2</sup>. Está situado al centro del macizo escalonado. En medio del macizo se encuentran tres peldaños decrecientes:

- La zona montañosa de la puna y de los valles.
- La zona sub andina.
- La zona del Chaco.

La geografía del Chaco boliviano ocupa el declive último de los andes hacia las planicies, que va al mar atlántico. Prácticamente la región es una secuencia de serranías intercaladas por llanos, rinconadas y quebradas. Por éstas corren riachuelos que, en los meses de lluvia, llevan sus aguas a los tres grandes ríos: el Guapay (Río Grande), el Parapetí o (Condorillo) y el Pilcomayo. El primero va hacia la amazonia, el segundo se pierde en las arenas del Izozo y el otro afluente del Paraguay.

La parte del Pilcomayo presenta colonias, bosques y cultivos agrícolas; lo mismo en la línea centra, entre Cuevo y el Ingre.

De los ríos que bañan este territorio, es de interés el río Pilcomayo que nace en el sudeste de Oruro con el nombre de río Pampa Rancho. En su curso superior sirve de límites con Potosí; posteriormente cruza en forma diagonal separando las provincias cinteñas.

Dentro de la zona del Chaco Boliviano se encuentran tres pueblos de cultura nativa antigua, los Tobas, Matacos y Chiriguano; pertenecientes a familias lingüísticas bastante extendidas. 34

### **Población Weenhayek**

En la Zona del Chaco Boliviano y limitante con Argentina se encuentra una población de 2020 originarios los Weenhayek distribuidos en toda la zona de la región Chaqueña, entre las comunidades de Capirendita, San Antonio Quebracheral, Algarrobal, San Bernardo, Villa Esperanza, etc. Esta comunidad vive a las orillas del río Pilcomayo, su lengua no se encuentra clasificada y ellos todavía la hablan.

Los Weenhayek migran, para sobrevivir, en busca de empleos, de tierras cultivables y aprovechamiento de los recursos naturales renovables.

Las migraciones fuera del área no son significativas, por lo tanto no afecta en proporciones relevantes a la población origen y residente en la región. La organización social básica de los Weenhayek está estructurada sobre las relaciones de parentesco, a pesar del carácter étnico que tiende al individualismo. Dentro de la etnia son endógamos, de modo que casi todos son parientes en algún grado.

La familia como unidad básica está conformada por los padres, los hijos solteros y los casados con sus cónyuges. El padre es el dueño (lewúk) de la unidad doméstica; los hijos y los yernos son ayudantes (lakaós), mientras que entre sí son compañeros (kalayis). El yerno o el hijo casado sólo se convierten en lewúk cuando construye su propia casa. La mujer y la madre es poco menos que una sierva, por la cantidad de trabajo que se descarga sobre ella, pero más por el modo despectivo con el que el varón trata a las mujeres en la vida social, aunque en los hogares suelen ser afectuosos.

Los padres prefieren hijos, pero ello no significa un rechazo a las mujeres, sino que los varones desde la infancia ayudan al padre en las principales actividades económicas. Los hijos varones gozan desde pequeños de mucha libertad que con los años aumenta.

Por otro lado, el ser dueño, no tiene la significación que se le da al término en la cultura occidental, de ahí que los hijos pueden obedecer al padre si quieren o no. El mantenimiento de la endogamia étnica, pero lógicamente con exogamia intercomunal, ha sostenido la resistencia de la aculturización, ancianos Weenhayek cuentan que se castigaba duramente, se los enterraba vivos, a quienes establecían uniones matrimoniales con individuos de otros pueblos. En sus relaciones sociales, establecen un orden jerárquico, que expresa un juicio de valor respecto a los otros. A pesar de su apariencia, los hombres no son iguales y existe un orden de relación hacia ellos:

- Primero: Mi familia próxima (padres, esposa, hijos, nietos y otros). Asentada en la misma comunidad
- Segundo: Mi familia geográficamente extendida en diferentes comunidades

- Tercero: Todos los habitantes de la Comunidad
- Cuarto: Todos los Weenhayek
- Quinto: Todos los noctene
- Sexto: Todos los maticos mak 'a
- Séptimo: Todos los indígenas asentados en el chaco
- Octavo: Todos los extraños.

Este orden de prioridades expresa un fuerte etnocentrismo que suele aparecer en sus múltiples manifestaciones de superioridad respecto a los otros grupos del Chaco e incluso con relación a mestizos y blancos. Ya sea porque viven relativamente aislados, por su homogeneidad cultural o por sus marcados lazos de parentesco, lo evidente es que la etnia tiene una gran cohesión y una fuerte solidaridad interna.

Su religión tradicional era animista y muy ritualizada. Dentro de su infraestructura cuenta con ambientes de segundo y tercer nivel, en algunas comunidades viviendo cercados entre animales de crianza. La actividad económica Weenhayek se basa en la pesca y como actividades secundarias desarrollan la recolección de frutos silvestres, miel; forestal, venta de fuerza de trabajo y la caza. Otra actividad económica importante para los Weenhayek es la artesanía tradicional, fabrican en hoja de palma, fibra de carahuata y madera. La zona en la que se encuentran son extensas, llanura boscosa, tierras degradadas, bosques pobres, con escasos ríos por la sequedad del medio ambiente, pero en época de lluvias éstos, se expanden en cuencas de inundación. Son tierras de poca altitud y gran horizontalidad; cruzan el territorio Weenhayek los ríos Bermejo, Pilcomayo y Villamontes.



La temperatura media anual es de 25 °C; la precipitación media anual es de 850 mm., con seis meses muy secos.

Los problemas ambientales que confrontan los Weenhayek son: la contaminación del Río Pilcomayo con desechos tóxicos que provienen de las cabeceras del río en las regiones mineras de Potosí, donde las grandes empresas privadas realizan explotaciones de minerales; las prospecciones petroleras; el desmonte sin control y las prácticas agropecuarias inadecuadas afecta gravemente al ecosistema de la zona. 35

## Marco teórico

### Sangre

La sangre es un tejido líquido con un pH de 7,35-7,45 que recorre el organismo transportando células, y todos los elementos necesarios para realizar sus funciones vitales (respirar, formar sustancias, defenderse de agresiones) y todo un conjunto de funciones muy complejas y muy importantes para la vida, lo realiza por un sistema vascular formado por vasos sanguíneos de diverso calibre. (6) (15)

La sangre tiene una composición muy compleja: contiene 55% de plasma y un 45% de elementos formes: estas células son de tres tipos: eritrocitos, leucocitos y plaquetas, y todas ellas tienen su origen en una única célula pluripotente (célula madre) situada en el tejido hematopoyético de la médula ósea.

### Glóbulo rojo

El nombre eritrocito deriva del griego  $\rho\upsilon\theta\acute{o}\varsigma$  erythros ('rojo') y el español -cito, 'trozo de célula', que proviene de  $\kappa\acute{\upsilon}\tau\omicron\varsigma$  cytos ('cavidad o recipiente hueco').

Los glóbulos rojos son los más numerosos de todas las células sanguíneas que hay en la sangre. En el cuerpo de un adulto se producen de 4 a 5 billones de glóbulos rojos, célula que presenta importantes diferencias con respecto a otras células del organismo. En primer lugar, no tiene núcleo, por lo que le falta la capacidad de división y tienen su origen en la célula stem de la médula ósea, perdiendo el núcleo antes de ser liberado a la circulación, tampoco tiene mitocondrias o ribosomas, ni ADN o ARN. No obtiene energía del ciclo de Krebs y no tiene un sistema de transporte de electrones para la fosforilación oxidativa. A pesar de estas deficiencias el glóbulo rojo es una célula compleja y metabólicamente activa cuya vida media es de alrededor de 120 días y cuando mueren, son sacados de la circulación por el bazo.

La función de los glóbulos rojos es absorber oxígeno de los pequeños alvéolos que se encuentran en los pulmones y llevarlo a todos los músculos, tejidos y órganos del cuerpo.

### Membrana del glóbulo rojo

La estructura de la membrana del glóbulo rojo le confiere gran plasticidad (puede atravesar capilares menores a su tamaño sin distorsionarse). Cuando se observa el movimiento de los glóbulos rojos en los vasos pequeños por medios de cinemicrografía se ve que el plano del disco se orienta en dirección de la corriente, la parte que avanza se aguza y la posterior se redondea, semejando un paracaídas. De ese modo puede atravesar capilares de 4 micrones.

## Ultraestructura

En los cortes delgados de la membrana eritrocitaria se distinguen tres capas: dos electrodensas de 2.5nm (25 Å) de espesor, separadas por otra transparente de 2 nm, sumando 7nm. Las bandas electrodensas representan a las proteínas o los extremos polares de los fosfolípidos.

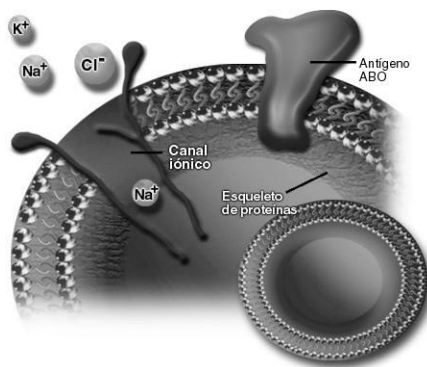


Figura 1 Ultraestructura

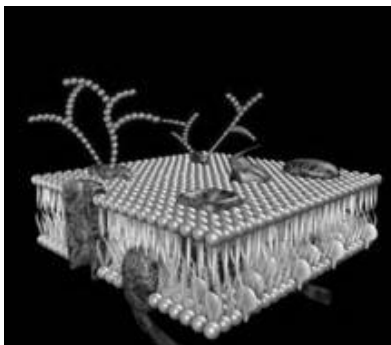


Figura 2 Ultraestructura

## Composición química

La composición química de la membrana comprende: 10% de carbohidratos, 40% de lípidos y 50% de proteínas. 32

## Lípidos de la membrana

Son responsables en parte de sus características físicas, flexibilidad mecánica y permeabilidad pasiva a los cationes. Los fosfolípidos y el colesterol no esterificado constituyen el 95% del total de lípidos de la membrana y el restante constituida por glucolípidos. En la matriz lipídica se insertan las proteínas. Tanto proteínas como lípidos se mueven lateralmente de manera libre dentro del plano de la membrana.

## Proteínas de la membrana

Son de dos tipos: proteínas integrales y proteínas periféricas.

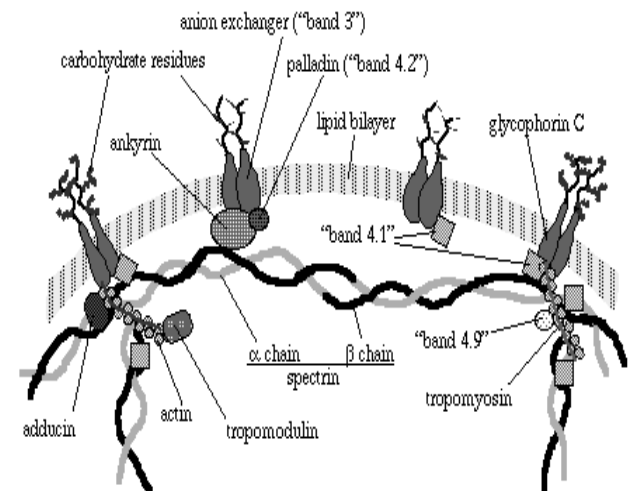


Figura 3 Proteínas de la membrana

## Proteínas integrales

La coloración con ácido periódico permite visualizar 4 bandas, que son monómeros o dímeros de dos glucoproteínas (glicoforina A y glicoforina B).

La glicoforina A representa el 75% y contiene en su cadena 60% de oligosacáridos. Son tetrasacáridos con una glicosilación importante. Las dos fracciones de ácido siálico de cada uno de los oligosacáridos son los que determinan el 60% de la carga negativa de los eritrocitos. Los otros dos componentes son N-acetil-galactosamina y una galactosa.

La glicoforina B proviene de un gen ancestral único, común a la glicoforina A con la que presenta bastante homología. La banda 3 es la proteína del intercambio aniónico.

### Proteínas periféricas

Representan el 35% de las proteínas totales de la membrana constituidas por espectrina, que es la principal proteína periférica; actina (forma el citoesqueleto); la proteína 4,1 que interviene en la estructura del eritrocito y estabilidad de la membrana; la ankyrina-sindeneína es una proteína que sirve como anclaje del citoesqueleto a la membrana.

### Grupos sanguíneos

Los grupos sanguíneos son características inmunológicas presentes en la membrana de los glóbulos rojos de algunos miembros de la especie y ausentes en otros, son el producto directo o indirecto de la actividad de los genes y se transmiten hereditariamente según leyes mendelianas.

Los grupos sanguíneos caracterizan de forma permanente a los individuos, se nace y se muere con ellos.

Sistema	Símbolo (ISBT)	No. Antígenos	Antígenos Principales
ABO	ABO	4	A, B, AB1, AI
MNSs	M,N,S,	38	M, N, S, s, u, Ena
P	P	1	P1
Rh	RH D,C,E, c,e	45	D,C,E,c,e
Lutheran	LU	18	Lua, Lub, Luab, Lu4
Kell	KEL	21	K,k, Kpa, Kpb, Jsa
Lewis	LE	3	Lea, Leb, Leab
Duffy	FY	6	Fya, Fyb, Fy3, Fy4
Kidd	JK	3	Jka, Jkb, Jkab
Diego	DI	4	Dia, Dib, Wra, Wrb
Cartwright	YT	2	Yta, Ytb
Xg	XG	1	Xga
Sciana	SC	3	Sm, Bu3, SC3
Dombrock	DO	5	Doa, Dob, Gya, Hy, Joa
Colton	CO	3	Coa, Cob, Coab
Land Wiener	LW	3	Lwa, LWb, Lwab
Chido Rogers	CH/RG	9	Ch1, Ch2, Ch3, Rg1, Rg2, WH
Hh	H	1	H
Kx	XK	1	Kx
Gerbich	GE	7	Ge2, Ge3, Ge4, Wb
Cromer	CROM	10	Cra, Tca, Tcb, Tcc, Dra.
Knops	KNOP S	5	Kna, Knb, McCa, Sla, Yka
Indian	IN	2	Ina, Inb

**Tabla 1** Principales sistemas antigénicos

### Antígenos (Ag)

Se entiende por antígeno a toda sustancia con capacidad de generar una respuesta inmune. Prácticamente cualquier tipo de molécula biológica incluyendo azúcares, lípidos, hormonas, metabolitos intermediarios, carbohidratos complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas pueden ser antígenos.

### Anticuerpos (Ac)

La molécula de inmunoglobulina destinada al antígeno se denomina anticuerpo. Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas y se hallan en la fracción de las globulinas plasmáticas.

Las inmunoglobulinas son elementos fundamentales en cada etapa de una respuesta inmunitaria humoral. Las inmunoglobulinas secretadas como resultado, funcionan entonces como anticuerpos, desplazándose a través de líquidos de los tejidos para buscar y fijar antígenos específicos que desencadenaron su producción. Las dos características fundamentales de las inmunoglobulinas como proteínas fijadoras de antígeno son la especificidad de cada una de ellas para una estructura antigénica particular, y su diversidad como grupo.

### Organización y diversidad de las inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas son una familia enorme de glucoproteínas relacionadas, pero no idénticas. Se estima que cada persona tiene la capacidad de producir cuando menos 108 moléculas de anticuerpos distintas, cada una con sus propiedades distintivas propias. Si bien los carbohidratos pueden representar hasta quinta parte de la masa de los anticuerpos, casi todos los atributos biológicos significativos se determinan por sus componentes polipeptídicos.

### Unidad básica de cuatro cadenas

Cada molécula de inmunoglobulina está constituida por la asociación de cuatro cadenas polipeptídicas unidas entre sí por fuerzas no covalentes y puentes disulfuro, dos cadenas se denominan pesadas H (heavy) y las otras dos ligeras L (light). A su vez, cada una de las cadenas ligeras y pesadas, incluye una región variable, cuya secuencia de aminoácidos es peculiar de cada anticuerpo, y una región constante, con la misma secuencia en todos los anticuerpos. Todas las inmunoglobulinas se conforman con esta estructura básica, aunque algunas están constituidas por más de una de estas unidades.

Cada unidad básica contiene dos sitios de unión de antígeno, por lo que se dice es divalente con respecto al enlace de antígenos.

La inmunoglobulina tiene una configuración en forma de T o Y cuando se observa esquemáticamente.

Las características de la cadena H determinan la clase de la inmunoglobulina: por tanto, hay cinco clases: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

Las inmunoglobulinas que tienen mayor relación con las interacciones inmunes de los grupos sanguíneos son la IgG y la IgM.

### IgM

Tiene 20 cadenas de aminoácidos, 10 son pesadas y 10 son livianas. La IgM tiene una sobrevivencia de 10 días. Constituye el 8% de las inmunoglobulinas totales. Su P.M. es de 900000. No provocan la enfermedad hemolítica del recién nacido debido a que la placenta carece de receptores para la IgM.

Aglutinan con facilidad a los eritrocitos suspendidos en solución salina. Durante la reacción antígeno-anticuerpo pueden activar el complemento y producir hemólisis de los glóbulos rojos.

Los anticuerpos naturales o aglutininas pertenecen a este tipo de Ig. Aparecen a los 3-6 meses en los lactantes. Las personas del grupo A presentan en el suero anti-B o  $\beta$  y las del grupo B, anti-A o  $\alpha$ , las del grupo AB no presentan anticuerpos en el plasma, en cambio las del grupo O tienen ambos anticuerpos ( $\alpha$  y  $\beta$ ). En anti-AB del grupo O es un tercer anticuerpo que presenta una reacción cruzada con un antígeno presente en los eritrocitos A y B. Se denomina AB o C.

A pesar de que los anticuerpos del sistema ABO se consideran naturales, se supone que su aparición se debe a la estimulación producida por antígenos vegetales y bacterianos que tienen una estructura química similar a los antígenos de grupo sanguíneo y que han ingresado al organismo desde las primeras etapas de la vida.

### IgG

Constituyen el 73% de las inmunoglobulinas totales. Tienen un P.M. 150.000.

La sobrevivencia de la IgG es de 60-70 días.

Se producen anticuerpos IgG: anti-A o anti-B por incompatibilidad transfusional, feto-materna o por transplantes. Atravesan la placenta porque la misma tienen receptores para IgG produciendo la destrucción de eritrocitos fetales (enfermedad hemolítica del recién nacido).

La exposición a un antígeno por vez primera determina una respuesta inmune primaria. En esta hay niveles bajos de IgM.

La respuesta secundaria es la respuesta al segundo contacto con el mismo antígeno. Se sintetiza cantidades importantes de anticuerpos y predomina la IgG.

Hay diferencia en el comportamiento de los anticuerpos IgM e IgG. Los primeros exhiben 10 puntos de combinación antigénica. Pueden sensibilizar y aglutinar de manera directa. Los anticuerpos IgG no aglutinan, recubren y sensibilizan a los eritrocitos. Para conocer si este paso se produjo se requiere otros métodos.

### Sistema ABO

En el año 1900 Karl Landsteiner descubrió los grupos sanguíneos y los procedimientos de laboratorio para determinarlos. Testó muestra de sueros individuales con eritrocitos de personas diferentes. Observó que algunas combinaciones presentaban aglutinación y otras no. En base a estos hallazgos clasificó a la sangre en A, B y O, pero predijo la posibilidad de un cuarto grupo. En 1902, discípulos suyos, Dcastello y Sturli hallaron el grupo AB. De este modo se había descubierto el primer sistema de grupos sanguíneos con gran significación clínica. En este sistema los anticuerpos antitéticos se hallan en el suero de las personas normales que no han sido expuestas a glóbulos rojos humanos.

### Genética del sistema ABO

La herencia de los grupos sanguíneos ABO se realiza de acuerdo con la ley Mendeliana de la alelia múltiple y está vinculada a tres alelos independientes denominados A, B y O ubicados en el locus ABO de dicho sistema. El grupo ABO corresponde a la presencia de los genes alelos A y B. Un hombre AB casado con una mujer O tendrá solamente hijos A y B, pero nunca un hijo AB.

Algunos antígenos de los grupos sanguíneos, como el Rh, son proteínas producidas directamente por sus genes en el eritroblasto. En cambio los genes del grupo sanguíneo ABO no codifican directamente sus antígenos específicos, sino que producen enzimas glucosiltransferasas. Estas enzimas transfieren azúcares específicos, a cadenas precursoras de carbohidratos.

El antígeno H se origina a partir de la enzima glucosiltransferasa  $\alpha$ -2-L-fucosiltransferasa que dona el azúcar GDP-fuc y el azúcar inmunodominante es la L-fucosa. De igual manera el antígeno A con la glicosiltransferasa  $\alpha$ -3-N-galactosaminiltransferasa, siendo el azúcar donado el UDP-Gal NAc y el azúcar inmunodominante es el N-acetil-galactosamina. También para el antígeno B con su enzima  $\alpha$ -3-d-galactosiltransferasa y el azúcar donado UDP-Gal y como azúcar inmunodominante la D-Galactosa.

Estos genes son heredados en una forma codominante desde ambos alelos A y B. Los genes A y B son alelos que se repelen entre sí durante la meiosis y representan alternativas de genes localizados en el mismo Locus, en cromosomas homólogos. El locus ABO se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9 y está íntimamente ligado al locus de la enzima adenilquinasa del glóbulo rojo. Se han encontrado múltiples alelos del locus ABO. Los cuatro alelos principales son: A1, A2, B y O. Han sido identificados numerosas variantes raras de alelos genéticos A y B que son genes alternos o sustitutos, responsables de algunas reacciones débiles de los fenotipos A y B. El gen O representa un gen amorfo o silente que no produce ninguna expresión antigénica. La herencia de una doble dosis del gen O es generalmente equivalente al término rasgo recesivo, en genética de los grupos sanguíneos.

Se considera que el gen O no es funcional porque la proteína que produce no determina ningún antígeno de grupo sanguíneo. A los eritrocitos de las personas del grupo O les faltan los antígenos A y B, pero portan una cantidad abundante de antígeno H, el precursor material sobre el cual se constituyen los antígenos A y B.

El locus ABO alcanza aproximadamente un tamaño de alrededor de 18 kilo bases y consiste en 7 exones, que presentan un tamaño desde 26 a 688 pares de bases, cada uno, la mayoría de las secuencias que originarán los epitopes antigénicos específicos codifican en el Exon 7.

El ADNc codificante para las transferasas del grupo A y del grupo B consiste aproximadamente de 1062 pares de bases y codifica para proteínas de 353 aminoácidos. Se sabe que sólo cuatro aminoácidos difieren entre las transferasas de los grupos A y B. Estas diferencias se presentan en los aminoácidos 176, 235, 266 y 268. Investigaciones recientes hallaron que las sustituciones de los aminoácidos en las posiciones 266 y 268 eran críticas en la determinación de la especificidad. El gen de la transferasa O difiere del gen de la transferasa del grupo A en solamente el nucleótido 258. La citosina 258 ha sido deletada para el gen de la transferasa del grupo O. Esta deleción única en el gen O desplaza el marco de lectura para producir un codón de detención prematuro en los nucleótidos 349-351, lo cual da lugar a una proteína truncada sin actividad de transferasas. Así, de los tres genes primarios del sistema ABO, dos son funcionales y uno determina un producto no funcional.

### Antígenos (Ag) del sistema ABO

El sistema del grupo sanguíneo ABO está constituida por los epitopes antigénicos A y B y los anticuerpos naturales contra estos antígenos en suero.

La expresión de estos antígenos A y B esta codificada por los alelos A y B en el locus ABO ubicado en el cromosoma 9.

Los antígenos A y B fueron inicialmente identificados sobre las células de los glóbulos rojos humanos, no obstante ellos fueron también hallados en las secreciones y sobre la superficie de células epiteliales y endoteliales. Además de encontrarse en la raza humana, similares estructuras antigénicas fueron también identificadas en una variedad de microorganismos, incluyendo microbios y plantas.

Los hematíes de las personas del grupo O carecen de antígenos A y B, pero presentan los antígenos H precursores de los A y B. Esta hipótesis fue posteriormente demostrada como correcta.

### Estructura de la cadena básica precursora de los antígenos

Las glucosiltransferasas A y B agregan glúcidos específicos a las cadenas de oligosacáridos transformadas en antígenos H, por acción de la fucosiltransferasa derivada del gen H. Los antígenos A, B y H se construyen en cadenas oligosacaridas de cuatro tipos (1a 4), que difieren en la unión de la beta-Dgalactosa (Gal) Terminal, La N-acetilgalactosamina (GlcNAc) y en las características intrínsecas de la cadena de carbohidratos. Las formas más abundantes son las cadenas de tipo 1 y 2. En las primeras, el carbono 1 de la Gal se une al 3 de la GlcNA; en las segundas el aceptor de Gal es el carbono 4 de la GlcNAc.

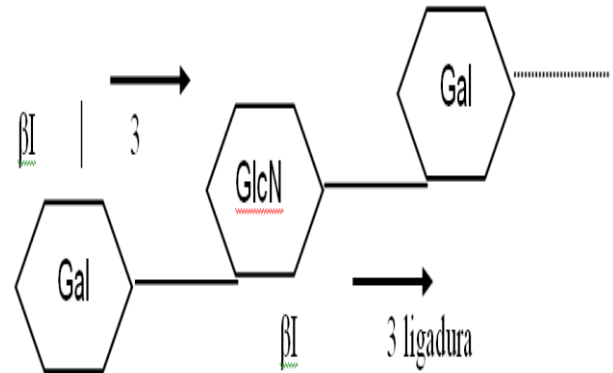


Figura 4 Estructura de Tipo 1

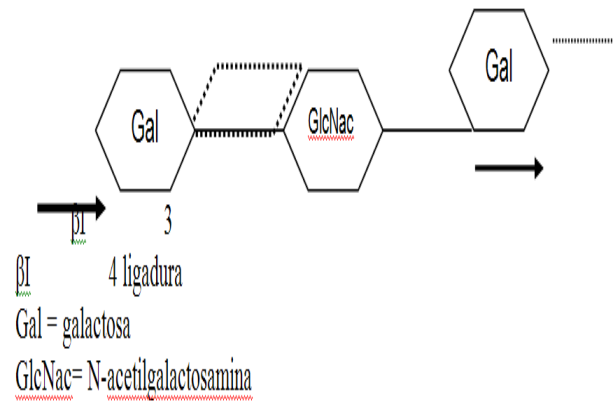


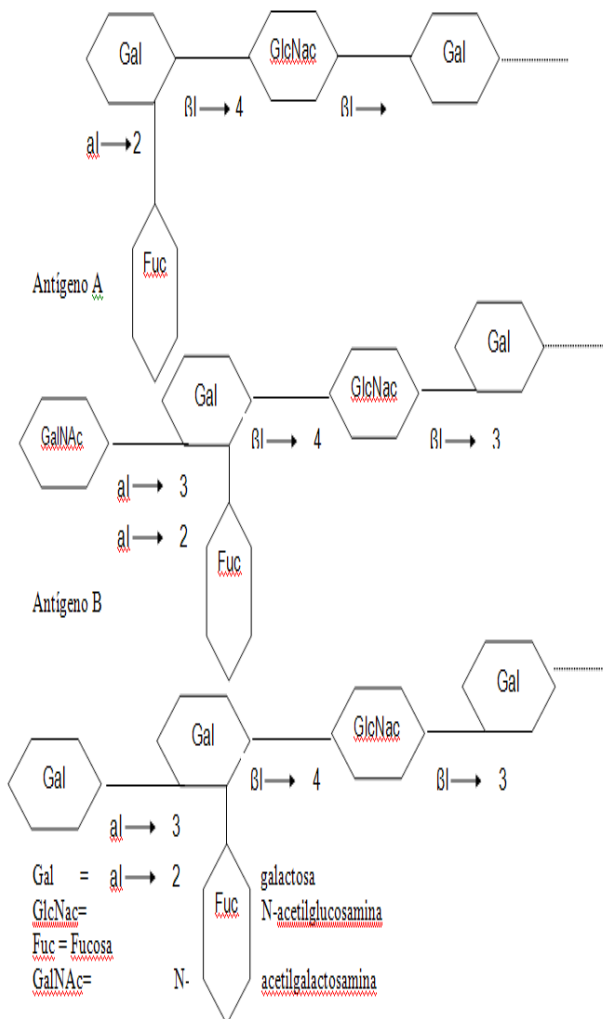
Figura 5 Estructura de tipo 2

Los oligosacáridos de tipo 1, con actividad A, B, y H, se distribuyen en todo el organismo.

Los glucolípidos de tipo 1 (A, B y H) se detectan en plasma y tejidos derivados del endodermo como el epitelio intestinal. Las glucoproteínas con cadenas de tipo 1 aportan actividad A, B y H a los líquidos corporales y secreciones. Los oligosacáridos de tipo 1 no fijados se detectan en la leche y orina. Las glucoproteínas 1 y 2 son antígenos A, B y H se encuentran en la saliva.

Los antígenos A, B y H de la superficie eritrocitaria se forman en las cadenas de tipo 2 presentes en los oligosacáridos muy ramificados de las proteínas integrales de la membrana, en especial las bandas 3 y 4,5 y en los oligosacáridos de tipo 2 unidos a glucolípidos. Se presume que en un número de puntos A, B y H eritrocitarios potenciales supera los dos millones.

El gen H produce una transferasa que añade fucosa al carbono 2 de la galactosa terminal de las cadenas de tipos 1 y 2.



**Figura 6** Antígeno H

Las transferasas de los genes A y B solo pueden fijar sus glúcidos inmunodominantes al carbono 3 de la misma galactosa cuando ya existe fucosa, es decir cuando la molécula central se convirtió en sustancia H. La ligadura de los glúcidos determinantes de los antígenos A y B disminuye la detección serológica de los H la expresión de los antígenos A o B guardan una proporción inversa.

En cuanto a los subgrupos ABO, son fenotipos que difieren en la concentración de los antígenos en los glóbulos rojos y la saliva de los secretores; son productos de glucotransferasas menos efectivas. Los subgrupos A son más comunes que los B. Los dos principales subgrupos A son los A1 y A2. La distinción serológica de las células A1 y A2 se logra mediante pruebas que utilizan lectinas de semillas de *Dolichos biflorus*. Los subgrupos B son menos comunes que los A.

Para clasificarlos se usan los mismos criterios que para el grupo A. El uso de los reactivos monoclonales anti-A y anti-B disminuyó el número de subgrupos A o B. Los anticuerpos se eligen por su capacidad para aglutinar las células con expresión antigénica débil.

A las 5 semanas de gestación aparecen los antígenos del sistema ABO y su potencia aumenta con el desarrollo. En el comienzo de la vida postnatal las interacciones antígeno-anticuerpo son débiles, los sitios antigénicos son escasos y el título del anticuerpo es bajo.

Los antígenos o aglutinógenos del sistema ABO son el A y el B. En 1911 se descubrieron subgrupos del A (A1 y A2) los cuales originaron los subgrupos del AB (A1 B y A2 B).

El 80% de las personas del grupo A son A1, el 20% restante A2.



### Anticuerpos (Ac) del sistema ABO

En general, las personas poseen anticuerpos dirigidos contra los antígenos A o B ausentes en sus glóbulos rojos. Esta relación complementaria previsible permite efectuar la tipificación ABO en suero o glóbulos rojos.

Una de las hipótesis que explica el desarrollo de estos anticuerpos se basa en que las configuraciones responsables de las especificidades A y B de la membrana eritrocitaria también existen en otras entidades biológicas, en particular en las paredes celulares bacterianas. La distribución de las bacterias muy amplia y su presencia en la flora intestinal, el polvo, los alimentos y otros sustratos asegura la exposición constante de todas las personas a estructuras antigénicas de tipo A y B. Los individuos inmunocompetentes reaccionan contra los antígenos ambientales produciendo anticuerpos contra aquellos ausentes en su propio organismo. Así, las personas del grupo O y B sintetizan anticuerpos anti-A y los individuos del grupo O y A, anti-B.

Las personas del grupo AB, que exhiben, que exhiben ambos antígenos, no generan ningún tipo de anticuerpos. Los anticuerpos anti-A y anti-B se detectan en suero después de los primeros meses de vida.

En ocasiones algunos lactantes producen estos anticuerpos desde el momento del nacimiento, pero la mayor parte de ellos presentes en sangre de cordón es de origen materno. La síntesis de anticuerpos, alcanza los niveles del adulto a los 5-10 años y en las etapas tardías de la vida, declina.

Las personas de la edad avanzada poseen concentraciones de Anti-A y anti-B más bajas que los adultos jóvenes.

La búsqueda de Anti-A y anti-B en el suero de los recién nacidos y lactantes menores de 4-6 meses no es válida, porque algunos o todos los anticuerpos derivan de la transferencia placentaria de IgG Anti-A y anti-B maternas.

Las inmunoglobulinas anti-A predominantes en los individuos del grupo B, y anti-B en los del grupo A, son IgM, aunque también se observan cantidades de IgG. Las IgG son Anti-A y anti-B predominantes en el suero del grupo O. Como la IgG atraviesa la placenta con facilidad y la IgM no, en los hijos de madres del grupo O el riesgo de enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) es mayor que en los hijos de madres de grupo A o B.

Las características que permiten diferenciar entre los Anti-A y anti-B de clase IgM e IgG son:

El tratamiento con enzimas de los glóbulos rojos intensifica la reacción tanto de anticuerpos de clase IgM como IgG.

El tratamiento con 2mercapto-etanol o ditiotreitól inactiva los anticuerpos de clase IgM, mientras que los de clase IgG no se modifican.

Las inmunoglobulinas de clase IgM son inhibidas por antígenos A o B solubles, mientras que las IgG no se modifican. Entonces podemos decir que las dos inmunoglobulinas aglutinan los glóbulos rojos en forma preferencial a temperatura ambiente (20-24°C) o menos y activan el complemento a 37°C. Su capacidad lítica es mediada por complemento y se manifiesta cuando las pruebas incluyen una fase de incubación a 37°C.

Aunque debemos tener en cuenta que los sueros de algunas personas hemolizan los eritrocitos ABO incompatibles a temperaturas inferiores a 37°C. Cuando el sobrenadante del suero es coloreado o el sedimento celular es escaso o nulo, estamos en presencia de una hemólisis por anticuerpos ABO. La hemólisis debe interpretarse como un resultado positivo.

Como esta mediada por complemento, si se suspenden los glóbulos rojos con EDTA u otros agentes que previenen su activación no ocurre.

### Anticuerpos Anti-A, B en suero de grupo O

El suero de los individuos del grupo O contienen anticuerpos denominados anti A,B porque reaccionan con los glóbulos rojos A y B y las especificidades Anti-A y anti-B no pueden separarse por adsorción diferencial. Cuando se incubaba suero del grupo O con células del grupo A o B, los eluatos exhiben reactividad contra los eritrocitos A y B. La saliva de los secretores de sustancia A o B inhibe la actividad de estos anticuerpos contra los glóbulos rojos A o B.

El suero del grupo O se emplea para preparar reactivos de tipificación potentes, capaces de aglutinar los glóbulos rojos A y B. Las mezclas que contienen anticuerpos monoclonales también aglutinan las células A y B. Cualquier versión de anti-A, B distingue los eritrocitos del grupo O, de los pertenecientes a los otros tres grupos. Los anti-A,B de anticuerpos monoclonales podrían reaccionar tanto o más con los glóbulos rojos de fenotipos A débiles, que los anti A, B policlonales humanos. Algunos reactivos monoclonales son mezclas de Anti-A y anti-B, denominadas Anti-A y anti-B, mientras que otros incluyen Anti-A y anti-B y un tercer clon Anti-A,B y se las llama anti-A,B.

### Anticuerpos anti-A1

En los estudios de adsorción simple, los anticuerpos Anti-A del grupo B parecen contener anti-A y anti-A1 separables. El suero del grupo B aglutina los glóbulos rojos A1 y A2; después de la adsorción con células A2, sólo reacciona con la A1. No obstante si se efectúan pruebas adicionales, las diferencias en la expresión de los antígenos A entre células A1 y A2 parecen ser más cuantitativas que cualitativas. En ocasiones se encuentra anti A1 en el suero de personas con fenotipo A2 u otros subgrupos A.

Los reactivos Anti-A obtenidos de la lecitina de *Dolichus Biflorus*, reaccionan con los eritrocitos A1 y A2, pero diluidos en forma apropiada no aglutinan las células A2, por lo tanto, constituyen un Anti-A1.

### Anticuerpos Anti-B

Los anticuerpos Anti-B se encuentran en el suero de las personas del grupo A. El suero de personas de algunos subgrupos B podría contener anti-B reactivos de débiles a potentes. También podrían detectarse anti-B en el suero de personas con fenotipo cis AB, circunstancia excepcional en la cual los antígenos A y B parecen heredarse en el mismo cromosoma. Además, los individuos con antígeno B adquirido, tienen anti-B en el suero por que los antígenos B eritrocitarios resultan de la desacetilación transitoria in vivo de los antígenos A.

### Sistema Rh

Es un sistema complejo y algunos aspectos genéticos y de interacciones antigénicas están aún en estudio. Es el segundo en importancia en la práctica transfusional.

Levine y Stetson en 1939 comunicaron el primer caso de anticuerpos anti-D que hallaron en el suero de una mujer que presentó una reacción hemolítica postransfusional luego de recibir sangre de su marido, y cuyo feto tuvo enfermedad hemolítica neonatal. En 1940 Landsteiner y Wiener describieron un anticuerpo obtenido de la inmunización de cobayos y conejos con eritrocitos de monos Rhesus. El anticuerpo aglutinaba los eritrocitos del 85% de los humanos estudiados.

### Genética del Sistema Rh

Actualmente se considera que dos loci estructurales estrechamente ligados en el cromosoma 1 determinan la producción de antígenos Rh, que son polipéptidos no glicosilados. El gen Rh D determina la presencia de una proteína de la membrana con actividad D en el eritrocito. Las personas D positivas deben tener uno de los dos ejemplares de este gen. Los individuos D negativos no tienen material genético en este sitio, nunca se halló el antígeno d. En otro locus adyacente el gen RHCE determinan los antígenos C, c, E y e. Sus alelos son RHCE, RHCE, RhcE y Rhce. Hay evidencia de que C/c y E/e residen en un solo producto polipeptídico.

### Química

Los antígenos del sistema Rh son proteínas de 416 aminoácidos. Estudios realizados en modelos demostrados que atraviesan la membrana eritrocitaria 12 veces y exhiben cadenas cortas de aminoácidos en su zona externa. Estos polipéptidos se diferencian de otros antígenos de los grupos sanguíneos en que no tienen residuos de carbohidratos. Hay homología entre los productos de RHD y RHCE, la cual es mayor entre los productos de los alelos de RHCE; C y e difieren en 4 aminoácidos y E y e solo en 1 aminoácido.

El polipéptido D posee 36 aminoácidos que serán reconocidos como extraños por los individuos D negativos.

Los eritrocitos RhnuH carecen por completo del antígeno Rh. Las proteínas Rh son parte de un complejo de la membrana en la cual la presencia de esos productos es importante para la expresión correcta o la presentación de otros constituyentes. Hay glucoproteínas que portan antígenos que requieren la presencia de la proteína Rh para su expresión (L, W, Duffy).  
33

### Nomenclatura

Tres sistemas se desarrollaron para transmitir información genética y serológica del sistema Rh. La más aceptada es la de Fisher y Race que utilizaron tres conjuntos de genes vinculados (C y c, D y d, E y e) El gen y su producto tienen la misma letra, el gen se escribe en itálica.

El fenotipo es la expresión de haplotipos. La letra R y r distinguen los que producen o no producen D respectivamente. A esto se agregan súper inscripciones de acuerdo a la combinación de genes y las especificidades antigénicas. Por ejemplo: R1 corresponde a la combinación de genes CDe y a las especificidades antigénicas C, D, e. El haplotipo indica genes ce y antígenos c, e.

El genotipo de una persona está formado por dos haplotipos, uno de origen materno y el otro de origen paterno. Si utilizamos como ejemplo la suma de los haplotipos descritos en el párrafo anterior veremos que si una persona es R1r su combinación de genes será CDE/ce y su especificidad antigénica C, D, e, c, e.

No siempre la identificación de los antígenos permite inferir el genotipo. En ese caso se establece la probabilidad de las frecuencias con las cuales determinadas combinaciones antigénicas proceden de un complejo genómico individual.

### Determinación del fenotipo (D)

En la práctica clínica hay 5 reactivos disponibles para la tipificación de sangre, los anti-D, -C,-E, -c y -e, pero en la práctica transfusional se utilizan el anti-D. Los otros son necesarios en estudios familiares o para la identificación de anticuerpos en patología.

En genotipo de una persona D positiva no puede ser determinado serológicamente, los estudios serológicos no son efectivos para determinar si es homocigota. Recientemente la técnica de clonación de genes puede permitir un conocimiento preciso. Las personas D negativas carecen de Rh D que codifican el antígeno D. La mayoría son homocigotas para Rhce, que codifica c y e.

El antígeno D no es fácilmente identificable en algunas personas debido a que las pruebas serológicas no dan aglutinación inmediata. En estos casos se requiere una incubación prolongada con el suero anti-D, o el agregado de suero antiglobulina luego de la incubación con anti-D. Se denominaban Du, pero actualmente se describen como D débil. El uso de reactivos anti-D monoclonales produce aglutinación directa de células D positivas que fueron consideradas como Du con los reactivos policlonales.

Las consecuencias en la práctica transfusional de la presencia de D débil han tenido muchas implicancias en relación a la conducta que se debe adoptar cuando son dadores o receptores.

Como dadores: la transfusión de sangre D débil a receptores D negativos ha sido proscrita, pues los eritrocitos transfundidos podrían producir una respuesta inmune contra D, a pesar que el D débil es menos inmunogénico que el D normal y podrían no estimular la producción de anticuerpos anti-D.

**Como receptores:** los pacientes con D débil pueden ser transfundidos con sangre D positiva sin un riesgo importante de inmunización, salvo en los casos en que la expresión fenotípica refleje la falta de epitopes de D, por lo cual la sangre D positiva puede producir aloanticuerpos-D.

**Enfermedad hemolítica feto-materno-neonatal:** en esta patología los eritrocitos se recubren de aloanticuerpos IgG de origen materno dirigidos contra un antígeno de origen paterno presente en las células fetales y ausente en las células maternas. Los eritrocitos son destruidos antes y después del nacimiento. La severidad determina desde la muerte intrauterina hasta alteraciones hematológicas en el recién nacido caracterizadas por anemia y eritroblastemia en todos los casos los anticuerpos de la madre reflejan aloinmunización por embarazo o transfusión.

El más común es el anti-D. El amplio uso de la inmunoprofilaxis posparto ha disminuido la inmunización contra el antígeno D asociada con el embarazo del 13% al 1-2%. El riesgo disminuye a 0.1% si se administra Rh Ig en las 28<sup>a</sup>. Semana de la gestación. La inmunoglobulina Rh (Rh Ig) es un concentrado en el que predomina Ig G anti-D derivada de pools de plasma humano. La dosis completa de anti-D (300 µg) es suficiente para contrarrestar los efectos inmunizantes de 15 ml de eritrocitos D-positivos, que corresponden a 30 ml de sangre entera fetal.

En los casos de aborto del primer trimestre se usan dosis menores (50 µg). El efecto protector de la Rh Ig sobre las personas D-negativas expuestas a células D-positivas resultaría de la interferencia en el reconocimiento antigénico en la fase de inmunización primaria. 33

### Antígenos (Ag) del sistema Rh

Se considera que son lipoproteínas presentes en la membrana eritrocitaria. También existen datos que indican su participación en el funcionamiento de esta membrana, ya que los individuos que no poseen antígenos Rh en los hematíes presentan anemia hemolítica por fragilidad de los eritrocitos.

La complejidad del sistema Rh radica en el gran polimorfismo de sus antígenos, ya que existen múltiples variantes de los antígenos correspondientes a los locus D, C y E. La mayoría de estas variantes son muy poco frecuentes, por ello sólo mencionaremos aquellas que tienen interés en la práctica clínica.

### Antígeno D<sub>μ</sub>

Este es un alelo débil del antígeno D, que se pone manifiesto usando anticuerpos anti – D más potentes que los habituales o mediante técnicas que facilitan la aglutinación de los hematíes previamente sensibilizados (prueba de Coombs).

La importancia de su determinación radica en que un donante D<sub>μ</sub> positivo puede sensibilizar a un receptor D negativo. Si no se detecta en la sangre del donante, la clasificaremos erróneamente como Rh negativo.

### Antígenos D parciales

En individuos normales, el antígeno D es un mosaico de subunidades que se encuentra presente en su totalidad, o ausentes si el paciente es Rh negativo. Sin embargo, ocurre en ocasiones que la persona es D positivo, pero le falta alguna parte de ese mosaico, de manera que puede inmunizarse contra esa parte en caso de recibir una transfusión o por contacto fetomaterno. Se producirán anticuerpos capaces de reaccionar contra los hematíes del donante y dará una impresión falsa de auto – anticuerpo anti – D.

### Otros Antígenos

Se producen antígenos extra como resultado de la cooperación de dos genes vecinos. Es el caso del antígeno F o ce, que da lugar a un anticuerpo muy potente, que en algunos casos ha sido responsable de la enfermedad hemolítica del recién nacido. También encontramos al antígeno G, que está presente en todos los hematíes D o C positivos y es capaz de producir un anticuerpo específico anti – G.

### Antígenos ausentes

Son los casos en los que existen haplotipos silenciosos, donde no se producen ninguno de los antígenos del sistema Rh. su genotipo sería -/-. En otros casos es parcialmente silencioso y faltan los antígenos EeCc, pero sí producen antígeno D. Su genotipo sería D -/ D-. 9

### Anticuerpos (Ac) del sistema Rh

A diferencia de los anticuerpos del sistema ABO, los anticuerpos que se producen frente a los antígenos del sistema Rh son de carácter inmune, es decir, se necesita una estimulación previa para su aparición en la sangre. Esta estimulación puede producirse por una transfusión o por contacto fetomaterno.

Suelen ser de tipo IgG, y se emplea para su detección la prueba de la antiglobulina humana debido a que reaccionan mejor en medio albuminoso. También se emplean con frecuencia enzimas, como la papaína, ficina y tripsina, para favorecer la aglutinación de los hematíes con los antisueros anti – Rh.

Debido a que el antígeno con mayor poder inmunógeno es el D, el anticuerpo que encontramos con mayor frecuencia es el anti – D, aunque también tienen importancia los otros anticuerpos. Por ejemplo, el autoanticuerpo anti – e suelen estar implicando en la mayor parte de los casos de anemia hemolítica autoinmune.

### Diagnóstico en laboratorio

#### Reacciones Antígeno – Anticuerpo (Ag-Ac)

En el estudio de los grupos sanguíneos, las reacciones que se observan con mayor frecuencia son la aglutinación, la hemólisis y la precipitación.

La aglutinación es la agregación, mediada por anticuerpos, de las partículas que expresan antígenos de superficie. Los glóbulos rojos se aglutinan por que los anticuerpos se fijan a los determinantes antigénicos eritrocitarios de células adyacentes y las unen en agregados visibles.

La aglutinación es el punto final de la mayoría de las pruebas que involucran glóbulos rojos y anticuerpos de grupo sanguíneo y es la reacción más relevante en este estudio considerando que los anticuerpos del sistema ABO son fuertemente aglutinantes. En algunas técnicas los anticuerpos cierran la brecha entre células adyacentes; en otras se fijan a los glóbulos rojos pero no los agregan y para inducir aglutinación visible y medir la reacción se requiere un paso adicional.

La hemólisis es la destrucción de los glóbulos rojos, con liberación de la hemoglobina intracelular. La hemólisis in vitro mediada por anticuerpos de membrana depende de la actividad de las unidades de ataque del complemento. La hemólisis no ocurre si los antígenos interactúan con los anticuerpos en sueros sin complemento o plasma con anticoagulantes que posee cationes quelantes (calcio y magnesio), necesarios para la activación del complemento. En las pruebas para detección de anticuerpos contra antígenos eritrocitarios, la hemólisis constituye un resultado positivo porque demuestra la unión de ambos componentes, que activa la cascada del complemento.

El sobrenadante rosado o rojo es una observación importante e indica positividad. Algunos anticuerpos líticos in vitro (anti-Vel) pueden causar hemólisis intravascular en los receptores de transfusiones. Otros (anti-Lewis y algunos anti-Kidd) pueden lisar las células in vitro, pero casi nunca se asocian a hemólisis intravascular.

La precipitación es la formación de complejos insolubles, en general visibles, cuando los anticuerpos solubles reaccionan con antígenos solubles. Estos complejos se aprecian en los tubos de ensayo como un sedimento o anillo y en los geles de agar, como una línea blanca. La precipitación es el punto final de procedimientos como la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis. Aún en presencia de antígenos solubles y anticuerpos específicos, la precipitación puede ser nula. Este evento requiere proporciones óptimas de antígenos y anticuerpos. Si el monto de anticuerpo es excesivo, los puntos antigénicos de fijación son insuficientes y no se entrelazan. Se forman complejos antígeno-anticuerpos, pero no se acumulan formando una malla visible. Este fenómeno se denomina prozona.

La combinación de antígenos y anticuerpos solubles también puede llevar a la neutralización completa o parcial de estos últimos. Aunque a menudo no se produce precipitado visible, la inhibición puede tener valor en las técnicas de identificación, por eliminación selectiva de anticuerpos específicos.

## Aglutinación

### Factores que afectan la aglutinación

La aglutinación es una reacción química reversible que se desarrolla en dos etapas:

**1er Estadio:** Sensibilización, es decir, fijación de los anticuerpos a los antígenos de la membrana eritrocitaria.

**2do Estadio:** Formación de puentes entre las células sensibilizadas para crear una estructura de enrejado que constituye la aglutinación.

En algunas reacciones Ag-Ac las 2 etapas ocurren casi simultáneamente, mientras que en otras sólo ocurre la primera etapa de la reacción, es decir, hay sensibilización de los eritrocitos por anticuerpos no aglutinantes.

Existen diversos factores que afectan estos estadios y pueden manipularse para potenciar o disminuir la aglutinación.

### Primer estadio de la aglutinación

Antes de la unión, los antígenos y anticuerpos deben encontrarse y crear un nexo espacial apropiado. La posibilidad de asociación puede incrementarse por agitación centrifugación o variación de la concentración de anticuerpos. Los antígenos y anticuerpos deben complementarse en forma estructural (estérica) y química.

La sensibilización requiere el establecimiento de puentes químicos no covalentes entre los antígenos y anticuerpos. Las fuerzas de unión suelen ser débiles (en comparación con los puentes covalentes intermoleculares) y sólo actúan en un rango muy limitado.

La combinación Ag-Ac es reversible y los puentes se crean y rompen de manera constante hasta alcanzar el equilibrio.

### Uniones químicas

Una vez que se forma el complejo Ag-Ac, las fuerzas que lo mantienen unido, son interacciones interatómicas débiles que mantienen al Ag y al Ac en un contacto muy cercano, capaz de desarrollar fuerzas que estabilizan la unión del complejo como las interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas.

### Constante de equilibrio (afinidad) de los anticuerpos

La constante de equilibrio o de afinidad ( $K_o$ ) de una reacción deriva de las tasas relativas de asociación y disociación. La  $K_o$  de los anticuerpos de las reacciones antígeno-anticuerpo es variable. Refleja el grado de asociación, fijación mutua y la velocidad de la reacción. Cuanto más alto es el valor de  $K_o$ , mayor es la asociación, cuando  $K_o$  es alta, la reacción es más rápida y la disociación más difícil, cuando  $K_o$  es reducida, la detección puede requerir una tasa de anticuerpos más elevada. El grado de encaje antígeno – anticuerpo recibe la influencia del tipo de uniones predominantes. Los enlaces hidrófobos suelen acompañarse con  $K_o$  más alta que los puentes de hidrógeno. La  $K_o$  depende de condiciones físicas como temperatura, pH, potencia iónica del medio y concentraciones relativas de Ag-Ac.

En las pruebas de laboratorio que utilizan la aglutinación como punto final, la alteración de las condiciones físicas del sistema puede aumentar o disminuir la sensibilidad.

### Temperatura

La mayoría de los anticuerpos de grupos sanguíneo reacciona en rangos térmicos restringidos. Estos anticuerpos se dividen en dos grandes categorías:

Reactivos en frío (4-25°C) que generalmente son de tipo IgM, relacionados con reacciones exotérmicas, asociados mediante puentes de hidrógeno a los antígenos de naturaleza química hidrocarbonada.

Reactivos en caliente (30-37°C), son de tipo IgG, regidos por la entropía, unidos a los antígenos de naturaleza proteica a través de uniones hidrófobas.

Los anticuerpos que solo reaccionan in vitro a temperaturas bastante inferiores a 37°C casi nunca destruyen los glóbulos rojos transfundidos y en general se los considera significativos desde el punto de vista clínico. Aunque existen excepciones importantes. Muchos de estos anticuerpos reactivos en frío son de tipo Ig M, mientras que los reactivos en caliente son de tipo IgG. Este concepto llevo a concluir en forma errónea que la clase de anticuerpo determina la temperatura de reacción. No obstante la temperatura de la reactividad Ag-Ac se vincula más con el tipo de reacción y la naturaleza química de los antígenos que con la clase de anticuerpos. Los antígenos hidrocarbonados suelen relacionarse con anticuerpos reactivos en frío y los proteicos con anticuerpos reactivos en caliente. Los anticuerpos clínicamente significativos son aquellos que tienen actividad in vivo que se manifiesta in vitro al reaccionar a 37 °C.

Las reacciones antígeno- anticuerpo llevan una descarga de energía libre en forma de calor (reacción exotérmica) y/o modificación en la entropía. Las reacciones exotérmicas se asocian a los antígenos hidrocarbonados mediante puentes de hidrógeno y en general prefieren las temperaturas bajas. Aquellas regidas por la entropía se asocian a los antígenos proteicos a través de uniones hidrófobas. Por ejemplo, los anticuerpos Rh aglutinan más a 37°C por la naturaleza proteica de sus antígenos.

Los efectos de las variaciones térmicas sobre la  $K_o$  de la mayoría de los anticuerpos de reacción en caliente son escasos o nulos. La influencia de la velocidad o la tasa de la reacción es mayor que la de la temperatura. Los anticuerpos reactivos en caliente podrían detectarse después de una incubación a menos de 37°C, pero podría ser necesario prolongarla.



En cambio los cambios térmicos afectan mucho a los anticuerpos reactivos en frío y el ascenso de la temperatura lleva a la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo. Es así que la actividad del anti-p1, que reacciona con antígenos glucolípidicos, puede pasar desapercibida si se analiza a 37°C. 3

### **PH**

Se desconoce el pH óptimo, pero se supone que se aproxima al rango fisiológico. En la mayoría de las pruebas de rutina debe emplearse un pH de alrededor de 7.

### **Incubación**

El intervalo necesario para alcanzar el equilibrio depende del Ac. Las variables significativas incluyen requerimientos térmicos, clase de Ig y la forma en que se une con el Ag específico.

El agregado de agentes potenciadores al sistema puede incrementar el monto de anticuerpos que se fijan a los antígenos, por lo tanto, abreviar el tiempo de incubación necesario para alcanzar el equilibrio.

### **Potencia Iónica**

En una solución salina normal los iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> se agrupan alrededor de las moléculas del Ag y el Ac, y neutralizan parcialmente sus cargas opuestas.

Este recubrimiento dificulta la unión del Ac con el Ag y se reduce al disminuir la fuerza iónica del medio donde tiene lugar la reacción, por lo general cuando la concentración salina del medio de reacción disminuye, la velocidad de captación del Ac aumenta.

### **Relación antígeno-anticuerpo**

El exceso de Ag en relación con el Ac, puede determinar una captación óptima de los Ac. En las pruebas de inhibición o adsorción esta circunstancia es útil. Sin embargo, en la mayoría de los estudios eritrocitarios el exceso de Ag reduce el número de moléculas de Ac unidas a cada GR, limitando su capacidad de aglutinación. Por lo tanto, en la mayoría de los procedimientos de rutina es preferible contar con anticuerpos en exceso.

En la serología eritrocitaria es común usar dos gotas de suero por cada gota de suspensión de glóbulos rojos al 2-5%. Si los anticuerpos son poco reactivos (Ko baja), en general el aumento de la concentración puede acrecentar la sensibilidad de la prueba. Muy rara vez, el exceso de anticuerpos puede inhibir la aglutinación y provocar un fenómeno de prozona comparable al que se observa en las reacciones de precipitación. No obstante, el aumento de la concentración de anticuerpos incrementa la sensibilidad de las pruebas de aglutinación.

La disminución de la concentración de glóbulos rojos del 5% al 2% -3% duplica la proporción suero/células, como ocurre cuando se agregan cuatro gotas de suero a la suspensión celular estándar.

A veces es útil duplicar el suero, en particular durante la investigación de una reacción transfusional hemolítica cuando los estudios de rutina no revelan la presencia de anticuerpos. 3

## Segundo estadio de la aglutinación

Cuando los anticuerpos se fijan a los antígenos de la superficie eritrocitaria, las células sensibilizadas deben vincularse en una red. Este hecho permite visualizar la reacción. El tamaño y las propiedades físicas de las moléculas de anticuerpo, la concentración de puntos antigénicos de cada célula y la distancia entre células afectan la aglutinación.

Los puentes establecidos entre los anticuerpo ligados a los determinantes antigénicos de glóbulos rojos adyacentes suelen resultar de la colisión al azar de las células sensibilizadas. En condiciones isotónicas, los glóbulos rojos no pueden aproximarse a menos de 50-100<sup>Å</sup>.

Las moléculas de IgG no alcanzan a cubrir esta distancia y producen la sensibilización sin formación de malla. En el caso de moléculas multivalentes más grandes (IgM) la aglutinación directa es fácil. La ubicación y densidad de los epítopes antigénicos permite que algunos anticuerpos IgG, causen aglutinación directa. Por ejemplo los antígenos A, B, M y N que se encuentran en los bordes externos de las glucoproteínas eritrocitarias y cuya concentración es bastante elevada, permiten que los anticuerpos IgG puedan entrelazarse. Los glóbulos rojos suspendidos en solución salina tienen una carga superficial negativa neta. Las moléculas negativas de la membrana atraen cationes positivos que reducen, pero no neutralizan, la carga entre el medio circundante y la nube de iones atraída por las células. El potencial zeta es una medida de esta carga neta. Como las cargas iguales se repelen, la distancia entre los eritrocitos en un medio iónico es proporcional al potencial zeta. Se creía que este potencial desempeñaba un papel destacado en las reacciones antígeno-anticuerpo, pero ahora se lo considera un factor menor.

El agua de hidratación es una propiedad física importante que mantiene la distancia entre los glóbulos rojos suspendidos en solución salina. Se piensa que las moléculas de agua que se unen a las macromoléculas hidrofílicas de la superficie celular actúan como burbujas aislantes que evitan la asociación estrecha. La tensión interfacial (superficial) de los eritrocitos, inducida por las fuerzas de Van der Waals también es baja y por lo tanto, las células no se asocian. Para potenciar el segundo estadio de la aglutinación y visualizar la reacción se usan varias estrategias. La centrifugación promueve el acercamiento físico de las células. La prueba antiglobulínica directa emplea suero antiglobulínico para favorecer la reacción. Otros métodos reducen la carga negativa de las moléculas superficiales, disminuyendo la capa de hidratación que rodea a las células e introduciendo macromoléculas con carga positiva que agregan las células. Una vez que la reacción Ag-Ac ha ocurrido, la aglutinación puede o no producirse. Algunos factores permiten la aglutinación, otros la impiden, estos son: características del Ac, localización y número de sitios antigénicos, fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos.

## Características del anticuerpo

Dos de las características de los anticuerpos que deben considerarse son el tamaño y el número de sitios de combinación con el Ag. Los anticuerpos IgM pueden establecer puentes entre los eritrocitos y aglutinarlos aún suspendidos en solución salina, esto es posible porque son moléculas circulares y poseen 10 sitios de combinación con el Ag, separados a una distancia de 300 Å; la distancia que separa a 2 células normales es 184 Å y estos anticuerpos para provocar la aglutinación de las mismas pueden combinar 2 ó 3 de sus sitios con una, y el resto de los sitios con otra.

Las moléculas de IgG, a diferencia de las IgM, poseen sólo 2 sitios de combinación con el Ag y estos están separados a una distancia de 140 Å, por lo tanto, para aglutinar 2 células sólo dispone de un sitio de combinación para cada una, estos a su vez se encuentran más cercanos uno del otro que los sitios de la IgM.

### Localización y número de sitios antigénicos

Los reactivos hemoclasificadores anti-A y anti-B de tipo IgG regularmente aglutinan eritrocitos de estos fenotipos suspendidos en solución salina. Una explicación para este fenómeno es la localización y número de los antígenos del sistema de grupos sanguíneos ABO. Existe gran cantidad de sitios antigénicos A y B en los eritrocitos, comparado con el número de sitios de otros antígenos, además los antígenos A y B están localizados en los glicolípidos y zonas sobresalientes de la superficie de la membrana.

### Fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos:

Los eritrocitos tienen una carga neta negativa en su superficie, su interacción con los iones del medio en que están suspendidos altera esa carga y producen una carga neta denominada potencial zeta, de ahí que la distancia que separa a los eritrocitos es proporcional al potencial zeta y la disminución de esta hace que los eritrocitos se aproximen y puedan ser aglutinados.

### Métodos potenciadores de la aglutinación

Para potenciar el segundo estadio de la aglutinación y visualizar la reacción se usan varias estrategias. La centrifugación promueve el acercamiento físico de las células. La PAI emplea suero antiglobulínico para favorecer la reacción.

Otros métodos reducen la carga negativa de las moléculas superficiales, disminuyendo la capa de hidratación que rodea a las células e introduciendo macromoléculas con carga positiva que agregan a las células.

### Albúmina sérica bovina

Los anticuerpos que no aglutinan eritrocitos suspendidos en solución salina, en ocasiones, los aglutinan cuando están suspendidos en albúmina bovina, esto es posible porque la albúmina provoca un incremento en la constante dieléctrica del medio y una disminución del potencial zeta.

No todos los anticuerpos aumentan su actividad en las pruebas con albúmina, ya que esta influye en el grado de hidratación de la membrana, lo cual puede alterar la orientación estérica del determinante antigénico o puede disminuir la entropía disponible para dirigir la reacción. El reactivo más utilizado es la albúmina sérica en solución al 22% o 33% y polimerizada.

### Enzimas

Enzimas proteasas como la bromelina, tripsina, papaína y ficina se utilizan porque reducen la carga de la superficie de los eritrocitos al hidrolizar las sialoglicoproteínas de la superficie celular. La neuraminidasa también reduce la carga de la superficie celular porque escinde moléculas de ácido siálico N-acetil neuramínico (NeuNAc) de las cadenas de polisacáridos.

Cualquier mecanismo que elimine las cargas negativas de los GR reducirá la distancia que los separa al disminuir el potencial zeta y así facilitar su aglutinación por anticuerpos de clase IgG. Se conoce que este proceder puede disminuir la distancia entre células de 184 Å a 113 Å en eritrocitos tratados con papaína, y a 111 Å en tratados con neuraminidasa.

### Moléculas con carga positiva

La acción de estos agentes podría deberse a la neutralización de las cargas negativas aportadas por el ácido siálico característico de la membrana eritrocitaria.

Entre los polímeros con carga positiva están el bromuro de hexadimetrina, el sulfato de protamina, y la polisina L. Estos agentes en los GR normales exhiben agregación espontánea.

### Polietilenglicol (PEG)

El PEG es un polímero lineal hidrosoluble que se usa como aditivo para incrementar la captación de anticuerpos. Elimina agua, ocupa más espacio alrededor de los eritrocitos y concentra los anticuerpos, promoviendo su incorporación, y en muchos casos, potenciando la reacción.

### LISS

En comparación con la solución salina normal (0.17M), la solución de LISS (alrededor de 0.03M), potencia la captación de eritrocitaria de anticuerpos en el estadio.

Para evitar la lisis de glóbulos rojos a esta potencia iónica se incorpora una sustancia no iónica como la glicina. Estos reactivos contienen macromoléculas además de sales iónicas y amortiguadores. 3

### Marco operativo

#### Tipo de diseño

El diseño seleccionado para el presente estudio ha sido: descriptivo, transversal.

En este estudio, en principio se realizó un corte transversal al 2007 al 2010 a partir de esa fecha se procedió a la recolección de las muestras de manera simultánea con el objetivo de describir la distribución de antígenos y anticuerpos del sistema ABO y Rh en el grupo de estudio.

### Variables

#### Identificación de variables

Al inicio del estudio se identificaron las siguientes variables:

- Edad
- Sexo
- Antígenos del sistema ABO
- Antígenos del sistema Rh

#### Definición y operacionalización de variables:

Variable: Edad

#### La Definición Conceptual:

Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento expresada en número de años

#### 1b Definición Operacional

Conteo de tiempo transcurrido de cada persona que ha vivido desde su nacimiento, hasta el momento en que se realizará el estudio expresada en número de años.

**1c Categorización**

- 0-10 años
- 11-20 años
- 21-30 años
- 31-40 años
- 41-50 años
- 51-60 años
- 61-70 años

**1d Indicadores**

Mediante porcentajes

**1e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

Variable: Sexo

**2a Definición Conceptual:**

Características biológicas que diferencian al sexo masculino y femenino.

**2b Definición Operacional:**

Clasificación en masculino y femenino basada en características biológicas de los pobladores Weenhayek.

**2c Categorización**

Masulino M

Femenino F

**2d Indicadores**

Mediante porcentajes

**2e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

Variable: Sistema ABO

**3a Definición Conceptual:**

Sustancia generalmente proteica, que da lugar a la síntesis de un anticuerpo y reacciona específicamente con el mismo.

**3b Definición Operacional:**

El Sistema ABO se identifica por la presencia o la ausencia de dos antígenos diferentes, A o B, en la superficie del hematíe. Los cuatro tipos sanguíneos que se contemplan en esta clasificación son A, B, AB y O, los cuales vienen determinados por dichos antígenos. El tipo AB presenta ambos antígenos; el tipo O carece de ambos.

**3c Categorización**

Grupo A

Grupo B

Grupo AB

Grupo O

**3d Indicadores**

Mediante porcentajes

**3e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

Variable: Antígeno (D)

**4a Definición Conceptual:**

Sustancia antigénica presente en los eritrocitos de la mayor parte de las personas. Presente en los hematíes del 85% de las personas.

**4b Definición Operacional:**

Una persona que tiene el antígeno (D) es Rh+ (Rh positivo); una persona que carece del antígeno (D) Rh- (Rh negativo).

**4c Categorización**

Rh Ag (D) positivo

Rh Ag (D) negativo

Rh Ag (D) débil

**4d Indicadores**

Mediante porcentajes

**4e Instrumentalización**

En tablas de recolección de datos

**Población y muestra****Universo**

Se consideró como universo a todos los habitantes de la tribu Weenhayek asentada en la zona del chaco que corresponde a 2020 pacientes.

**Marco muestral**

De los 2020 habitantes de la tribu Weenhayek asentada en la zona del Chaco, el tamaño de la muestra está conformado por 98 pacientes, que voluntariamente cooperaron para la elaboración del presente trabajo y además cumplían con los criterios de inclusión.

**Unidad de muestreo**

Habitante de la tribu Weenhayek asentada en la zona del Chaco

**Unidad de análisis**

Muestra de sangre anticoagulada con CPDA-1, de habitante de la tribu Weenhayek asentada en la zona del Chaco

**Muestra**

La determinación del tamaño de muestra de estudio, fue obtenida de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2/\alpha \cdot p \cdot q \cdot N}{d^2 \cdot (N-1) + Z^2/\alpha \cdot p \cdot q}$$

N = Total de unidades del marco muestral que corresponde a 2020

$Z^2/\alpha = 1.962$  (si la seguridad es el 95%).  
Normal

p = proporción esperada (es este caso  $4,5\% = 0.045$ )

q = 1-p (en este caso  $1 - 0.045 = 0.955$ )

d = precisión (en este caso deseamos un  $0.04 \cdot 0.4\%$ )

Aplicada la fórmula el tamaño de la muestra que se obtuvo fue de  $n = 98$

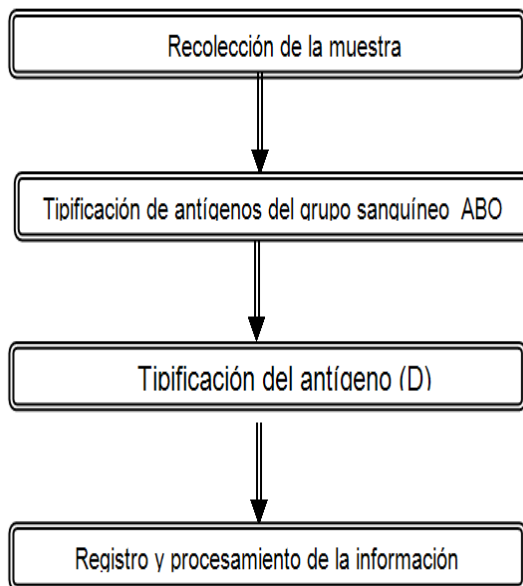
Conocidos los tamaños muestrales se procedió a la generación de números aleatorios mediante el programa Excel función análisis de datos: generación de números aleatorios.

### Instrumentos

La información fue recogida en una matriz diseñada para esta actividad, en la que se concentró toda la información de las variables que forman parte del presente estudio.

### Procesamiento de la información

El procesamiento de información se llevó a cabo de acuerdo al protocolo de estudio para lo cual se ha aplicado el siguiente flujograma previamente establecido



El análisis de los resultados producto de la aplicación de la técnica, fué realizado mediante cuadros que se obtuvieron de la tabulación y procesamiento de datos en el programa Excel 2003.

### Material y técnicas

#### Material

- Tubos de hemólisis (Tubos de vidrio de 12 x 75mm)
- Placas de vidrio
- Pipetas Pasteur de plástico
- Macro Centrifuga universal (ALC 4218 Centrifuge)
- Fuente de luz
- Lupa
- Reactivos
  - Solución fisiológica. Cloruro de sodio 0,9
  - Reactivo de Grupo sanguíneo NOVACLONE Anti-A murino monoclonal.
  - Reactivo de Grupo sanguíneo NOVACLONE Anti-B murino monoclonal.
  - Reactivo de Grupo sanguíneo NOVACLONE Anti-D IgM + IgG Monoclonal Blend

#### Técnicas

#### Selección de la técnica

Las técnicas para demostrar la presencia de antígenos y anticuerpos del sistema ABO y Rh utilizadas son las técnicas en placa y en tubo, técnicas que demuestran ser específicas en la investigación de antígenos, y anticuerpos, motivo fundamental que ha permitido su elección.

Además su ejecución no implica equipamientos sofisticados, por el contrario es una prueba de fácil ejecución, y factible de ser realizado.

### Recolección y preparación de la muestra

#### Recolección de la muestra

Las muestras fueron recolectadas previa asepsia con la técnica de venipuntura, habitual; tomándose como cantidad mínima de 5ml; en adultos y 3ml en niños.

El anticoagulante utilizado fue el CPDA 1(citrato, fosfato, dextrosa, adenina) en una proporción de 1:10 (100ul de anticoagulante para 1ml de muestra).

#### Preparación de la muestra

Para que la muestra sea procesada se procedió al lavado de eritrocitos, tan pronto como fue posible después de su recolección.

#### Lavado de eritrocitos

El lavado de eritrocitos se realizó con solución fisiológica a través del siguiente procedimiento:

- En un tubo de hemólisis se colocó una gota de la muestra.
- Se agregó solución fisiológica hasta  $\frac{3}{4}$  partes del tubo.
- Centrifugándose durante 5 minutos a una velocidad de 3000 r.p.m. (revoluciones por minuto),

- Se eliminó por completo el sobrenadante,
- Se repitió los pasos 2-3 y 4 por tres veces.
- Y se preparó una suspensión del 2% al 5% de glóbulos rojos con solución fisiológica.

### Determinación de antígenos del sistema ABO

Técnica de análisis en portaobjetos:

#### Procedimiento

- Se preparó una suspensión al 35-45% de los glóbulos rojos.
- Se colocó una gota (40-50ul) del reactivo en un extremo del portaobjetos rotulado.
- Mediante una pipeta de transferencia, se añadió 2 gotas de la suspensión de células al 35-45% a cada gota de reactivo
- Se mezcló bien cada suspensión de glóbulos rojos sobre el área circular de aproximadamente 20-40mm, usando diferentes varillas de aplicación limpias para cada suspensión.
- Después de mover suavemente el portaobjetos adelante y atrás durante 2 minutos se observó la aparición de hemaglutinación macroscópica.



## Técnica de análisis en tubo

### Procedimiento

Se colocó una gota (40-50ul) de reactivo de grupo sanguíneo Anti-A o Anti-B en un tubo de ensayo adecuadamente rotulado.

Mediante una pipeta de transferencia, se añadió al tubo de ensayo 1 gota de la suspensión de glóbulos rojos preparada al 2-5%. Se mezcló bien el contenido del tubo de ensayo. Centrifugándose durante: 15-30 segundos a 1000 x g

Se resuspendió suavemente la suspensión de glóbulos rojos y se observó la aglutinación macroscópica.

Para examinar la presencia de la aglutinación se tuvo el cuidado al despegar el botón de hematíes del fondo del tubo de hemólisis, agitando suavemente, para desalojar totalmente el botón, y a continuación se agitó suavemente hasta producir una suspensión uniforme de hematíes o aglutinados que se observaron macroscópicamente con la ayuda de una fuente o una lupa.

La presencia de aglutinación nos indicó una reacción positiva. La ausencia de aglutinación nos indicó una reacción negativa.

### Control de Calidad

Además antes de realizar las pruebas, se efectuó el control de calidad a los reactivos utilizados cuyo resultado es el siguiente: Control de calidad a reactivos de grupo sanguíneo NOVACLONE: Anti-A murino, Anti-B murino monoclonal y Anti-D IgM + IgG Monoclonal

Pruebas	Reactivos		
	Anti-A	Anti -B	Anti-D
Avidez	4 segundos	3 segundos	6 segundos
Intensidad	4 +	4+	4 +
Score	10	10	10
Título	1/2048	1/1024	1/512

**Tabla 2** Control de Calidad

### Delimitaciones del estudio

El presente estudio se realizó del 2007 al 2010 en individuos de la etnia weenhayek o maticos, ubicada sobre el margen derecho del río Pilcomayo en el Chaco Boliviano, en la comunidad de Zanandita (Villamontes) y las determinaciones de los antígenos del sistema ABO y sistema Rh se realizaron en el Servicio de Laboratorio del Centro de Investigación y Educación Sexual (CIES) Sucre y Villamontes.

### Resultados

#### Sexo

Sexo	%
Masculino	53
Femenino	47
Total	100

**Tabla 3** Distribución según sexo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

Según la variable sexo el 53% de los participantes de este estudio correspondió al sexo masculino y el 47% al sexo femenino.

## Edad

El grupo etáreo con mayor frecuencia en este estudio, fue de 11-20 años con un 30%, y el de menor frecuencia corresponde al grupo etareo de 51-60 años con solo el 3%.

Edad	%
0-10 años	17
11-20 años	31
21-30 años	21
31-40 años	14
41-50 años	9
51-60 años	3
61-70 años	4

**Tabla 4** Distribución según grupo etáreo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

## Grupo Sanguíneo ABO

Una vez realizada la tipificación del grupo ABO, se encontró que el 100% de los participantes de este estudio correspondían al grupo O.

Grupo Sanguíneo ABO	%
Grupo sanguíneo A	0
Grupo sanguíneo B	0
Grupo sanguíneo AB	0
Grupo sanguíneo O	100

**Tabla 5** Frecuencia de grupo sanguíneo ABO: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

## Grupo sanguíneo ABO según edad

Según la edad, el grupo sanguíneo O se presentó en el 100% de todos los grupos etareos, observándose la ausencia total de los grupos sanguíneos A, B y AB.

Edad	Grupo Sanguíneo A	Grupo sanguíneo B	Grupo sanguíneo AB	Grupo sanguíneo O
0-10 años	0	0	0	17%
11-20 años	0	0	0	31%
21-30 años	0	0	0	21%
31-40 años	0	0	0	14%
41-50 años	0	0	0	9%
51-60 años	0	0	0	3%
61-70 años	0	0	0	4%

**Tabla 6** Frecuencia de grupo sanguíneo ABO según edad: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010.

## Grupo sanguíneo ABO según sexo

El grupo O, se encontró presente en el 100% de los participantes tanto en el sexo masculino como en el femenino, demostrando así el escaso polimorfismo.

Sexo	Ag. A	Ag. B	Ag. O
Masculino	0	0	57%
Femenino	0	0	43%
Total	0	0	100%

**Tabla 7** Frecuencia de grupo sanguíneo ABO según sexo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

**Antígeno (D)****Antígeno (D) según edad**

Una vez realizada la tipificación del antígeno (D), se encontró que en todos los grupos etareos el 100% de los participantes de este estudio correspondían al grupo Rh (D) positivo.

Grupo	Nro.	Antígeno Rh (D)			
		Rh (D) positivo	%	Rh (d) negativo	%
Etareo		Nro.	%	Nro.	%
0-10 años	17	17	100	0	0
11-20 años	29	29	100	0	0
21-30 años	22	22	100	0	0
31-40 años	14	14	100	0	0
41-50 años	9	9	100	0	0
51-60 años	3	3	100	0	0
61-70 años	4	4	100	0	0

**Tabla 8** Frecuencia del antígeno (D) del Sistema Rh según edad: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

**Antígenos Rh según sexo**

En relación al sistema Rh, se encontró que tanto el sexo femenino como el masculino en el 100% de los participantes corresponde a Rh (D) positivo.

Sexo	Antígeno Rh (D)			
	Rh (D) positivo	%	Rh (d) negativo	%
Femenino	46	100	0	0
Masculino	52	100	0	0

**Tabla 9** Frecuencia del antígeno (D) del Sistema Rh según sexo: en la etnia Weenhayek o maticos, asentada en el Chaco Boliviano. Sucre 2010

**Análisis y discusión**

La frecuencia en que se presentan los grupos sanguíneos en la población general varía de acuerdo a los grupos étnicos, según estudios realizados en Estados Unidos en una población de indios americanos, la distribución es la siguiente: grupos sanguíneo "O" 79%, "A" 16%, "B" 4%, "AB" 1%.<sup>36</sup>

En Bolivia en un trabajo realizado en una población originaria Chipayas de Oruro, se observó una distribución del 100% del grupo sanguíneo "O" Rh positivo. <sup>36</sup>

En Chuquisaca en el trabajo realizado en el instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés en el año 2005, en pobladores originarios procedentes de las comunidades del municipio de Tarabuco, se encontró que el 88% de la población estudiada corresponde al grupo sanguíneo "O", el 12% corresponde al grupo sanguíneo "A". No se observaron casos de grupo sanguíneo "B" ni "AB". El 100% de la población estudiada presentó el grupo sanguíneo Rh positivo. 36

Un estudio realizado por el Dr. Jaime Ríos Dalenz en momias del altiplano Boliviano y mediante el método de aglutinación, en muestras de tejidos momificados presenta el siguiente resultado:

- Sistema ABO 100% correspondieron al grupo sanguíneo O.
- Sistema Rh: 100% fueron Rh positivo.

Fuente: Archivos Bolivianos de Historia de la Medicina Vol. 10 N° 1 - 2 Enero - Diciembre, 2004.

Suárez Morales\*, señaló que los resultados de su trabajo confirman estudios sobre los grupos autóctonos de América. Los cuales parecen corresponder a:

- 100% al grupo sanguíneo O y D. 36.

El presente trabajo de investigación fue realizado con el objetivo de obtener información acerca de los antígenos eritrocitarios de la etnia Weenhayek o maticos, que vive en el Chaco Boliviano, cuyo resultado demostró que los pobladores de esta etnia en el 100% correspondían al grupo sanguíneo "O" y con referencia al sistema Rh, el 100% corresponde al antígeno (D) positivo permitiendo demostrar el nulo polimorfismo.

## Conclusiones

Las conclusiones a las que se llegó en el presente estudio son:

Los participantes del presente estudio corresponden al 53% del sexo masculino y 47% al sexo femenino.

El grupo etáreo que mayor frecuencia presentó en este estudio fue el 11-20 años en un 31 % de y el de menor frecuencia es el de 51-60 años con 3%.

En la etnia Weenhayek el 100% de la población pertenece al grupo sanguíneo O y existiendo una ausencia total del grupo sanguíneo A y B. Hecho que permite confirmar la presencia de una etnia con poco o nulo contacto con otras culturas, en la que el polimorfismo en el sistema ABO es escaso.

En la etnia Weenhayek el 100% de la población es Rh positivo para el Antígeno (D), lo que permite corroborar el escaso polimorfismo para el sistema Rh en esta etnia.

La presente investigación confirma a través de la determinación de antígenos eritrocitarios de los sistemas ABO y Rh el escaso polimorfismo, en la etnia Weenhayek, que a pesar de las frecuentes invasiones, migraciones y colonizaciones, esta etnia mantiene su escaso polimorfismo, al igual que muchas otras etnias que viven a lo largo del territorio Boliviano.

## Recomendaciones

Las recomendaciones que se consideran pertinentes a la conclusión de este trabajo son: Para estudios posteriores se recomienda investigar otros sistemas sanguíneos por ejemplo el sistema Diego, Kell y Duffy y realizar el estudio, para que con los resultados obtenidos se pueda efectuar un meta-análisis que permita conocer con mayor profundidad el comportamiento de los sistemas sanguíneos en la población étnica de Bolivia.

Con la conformación del nuevo estado se han puesto al descubierto y registrado cerca de 36 etnias, el presente estudio se realizó en una sola etnia, por lo que se considera necesario recomendar la realización de este tipo de estudios en las etnias restantes, para obtener un mapeo sobre los sistemas ABO y Rh, que permitan conocer con exactitud la frecuencia poblacional, con el objetivo de enriquecer la información sobre estos sistemas debido a su importancia en la medicina transfusional.

## Agradecimientos

La investigadora agradece a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

## Referencias

Asociación Argentina de Hemoterapia e inmunohematología, Manual Técnico 13<sup>a</sup> Edición Buenos Aires 2001

Barbolla Importancia Clínica del Sistema ABO, Revista Argentina de transfusión volumen XXI. Septiembre 1995

Bermeman Z, van Bockstade. Dr. Bitembrock Win. Et.al Flor citometric analysis of eritrocy the blood group A antigen density profiles. Vox Sang. 1991

Clausen H, LeverySB Nudelman E, et.al. Repetitive An epitope defined by group A1-specific monoclonal antibody. Chemical basis of qualitative A1 and A2 distinction. Proe Natl Acad. SCi USA 1985.

Eylar EN, Macloff MA, Brody OR. The contribution of sialic acid to the surface charge of the erythrocyte. J Biol Chem 1962; 237:1992.

Franco RF, Simoes BP, Zago M relative frecuencias of the two "O" alleles of the histoblood ABH system in differentee racial groups. Von Sang. 1995

Fukuda M, Fukuda MN, Hakomori ST. Developmental change and genetic defect in the carbohydrate structure of band 3 glycoprotein of human erythrocyte membrane. J Biol Chem 1979; 254:3700-3.

Fumiichiro Yamamoto Molecular Genetics of ABO. Vox Sanguinis 2000

Fumiichiro Yamamoto Molecular Genetics of the ABO histo-blood group system. Vox Sanguinis 1995

Gamma-ReActin Antibody detection strips. Red cell affinity column test for the detection of IgG antibodies. Hosuton TX Gamma Biologicals. 1996.

SANDOVAL Claudia. Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010. Revista de Energía Química y Física, 2014

Giannecchini Doroteo. Historia Natural, Etnográfica, Geográfica. Lingüística del Chaco Boliviano 1898. Editor: P. Lorenzo Calzavarini O.F.M. Fondo de Universión Social.

Grasso Ibarra Dick E. Pueblos indígenas de Bolivia. Editorial Juventud. La Paz. }

Issitt PD. Applied blood group serology. 3 ed. Miami: Montgomery Scientific Publications, 1989.

Issitt PD. Applied blood group serology. 3 ed. Miami: Montgomery Scientific Publications, 1989

JorgensenJ, Nielsen M CB, Noramrk J. The influence of ionic strength, albumin and incubation time on the sensitivity of the indirect Coombs. Test. Vos Sang 1980

Lowe JB. Carbohydrate –Associated Blood Grup. Antigens Tht ABO, H/Se and Lewis loci. Immunobiology of transfusion medicine New York 1994

Mide SM, Carreras LO, Fassi D, Forastiero D Sangre estructura y fisiología 1ra Edición Buenos Aires 2001

Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. ed. Blood transfusion in clinical medicine. 10 ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1997.

Mollison PL., EngelfrietCP, Contreras M. eds. Blood transfusión and clinical medicine 10ª Ed. Oxford England Blackwell scientific publications, 1997

Msc. Marycruz Mojica Sandi, Msc. Carolina Torres, Dra. Teresa Michel, Dra. Greta Vargas, Dra. Maria Gloria Bello. Prevalencia De Antígenos Eritrocitarios Del Sistema ABO Y Rh En Población Originaria De Tarabuco. Sucre, 2005

Ogasawara K, Yabe. R Ichikawa et. al. Al Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the ABO blood group system. Blood 1996

Olsson Chester. Evidence for a New type of O allele the aBO locus, due to a combination of the A2 nucleotide deletion and A el nucleotide insertion Von. Sang 1996

Organización Panamericana de la salud Oficina regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud La Paz Bolivia citado 3 noviembre 2005 disponible en <http://salud.ops.org.bo>

Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. Inmunología básica y clínica. 10a ed. México: Manual moderno: 2002

Petty AC, Green CA, Daniela GL. The monoclonal antibody-specific antigens assay in the inestigation of human red-cell antighensand their associated membrane proteins. Transfusion med. 1997

Pico MC, Giralдино IG, Otero A. Inmunología experimental. La Habana: Félix Varela, 1997.

Pollack W, Hager HJ, Reckel R. A study of the forces involved in the second stage of the hemagglutination. Transfusion 1965; 5:158

Roitt IM. Essential immunology. 4th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1980.

Rosse WF. Clinical immunohematology: basic concepts and clinical applications. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1990:328.

S. Henry R. Mollicone, J. Love Samuelsson, G. Larson. A second monosecretor allele of the blod group alpha (1.2) fucosyltranferase gene. Vox Sanguinis 1996

Salmons C. Les groupes sanguins ou I. Escriture de genes. Editorial Masson. Paris 1997

Spalter. Kaveri, Bonnin, Manil, Cartron, Kazatchkine Normal human serum contains natural anibodies reactive with autologous ABO blood group antigens. Blood, Vol93 Nro.12. 1999

Universidad de Córdoba España [Página de internet] Inmunología on line disponible en <http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular>

Vélez A. Hernán. Hematología, Quinta edición CIB – Colombia.

Yamamoto, Fl. Review:.,Recent progress in the molecular genetic study of the histo blood group ABO system. inmunoematology 1994

Yamamoto, Mc Neil M. Yamamoto, Hakomori, Harris. Molecular genetics analisis of the ABO blood group system. Vox Sanguinis 1993

## Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre – 2011

ANDRADE-Maria †

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre- Bolivia.*

Recibido 29 de Julio, 2014; Aceptado 20 de Diciembre, 2014

### Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo sistematizar la información sobre la identificación de especies de *Candida* Dei candidiasis vulvovaginal en mujeres embarazadas que acuden al hospital de obstetricia Ginecología Dr. Jaime Sánchez Porcel de Sucre 2011. Métodos y técnicas se aplicaron correctamente, y luego se presentó y analizó los resultados obtenido mediante la aplicación de técnicas de diagnóstico para la identificación de especies de *Candida* en mujeres embarazadas con términos gráficos candidiasis vulvovaginal y porcentuales fueron implementadas.

### Mujeres embarazadas, diagnóstico, *Candida*

**Citación:** ANDRADE María. Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre – 2011. Revista de Energía Química y Física 2014, 1-1:96-143

### Abstract

The present study aimed to systematize the information on the identification of *Candida* species Dei vulvovaginal candidiasis in pregnant women attending the hospital obstetric Gynecology Dr. Jaime Sánchez Porcel de Sucre 2011. Methods and techniques were applied properly, and then it was presented and analyzed the results obtained by applying diagnostic techniques in the identification of *Candida* species in pregnant women with vulvovaginal candidiasis graphical and percentage terms were implemented.

### Pregnant women, diagnosis, *Candida* species

† Investigador contribuyendo como primer autor



**Introducción**

La candidiasis es una infección que puede ser aguda, sub-aguda o crónica pudiéndose localizar en las mucosas, uñas, pulmones o riñones así también como ocasionalmente provocar endocarditis, meningitis y septicemia. El agente etiológico es un hongo de género *Candida*, siendo la especie más frecuente *Candida albicans*. Las otras especies de este género tales como la *Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. Kéfir*, *C. parapsilosis*, *C. viswanathii*, etc. pueden también producir infección. Estas levaduras están ampliamente distribuidas en el medio ambiente, pudiendo la *Candida albicans* ser encontradas no solo en el agua y objetos contaminados por material orgánico de hombres y animales.

Las micosis invasoras son cada vez más frecuentes en la práctica clínica, afectando especialmente a sujetos con grados variables de inmunocompromiso por causas como infección por el VIH y enfermedades hematológicas malignas. Además se presentan en forma secundaria a tratamientos agresivos como cirugías mayores, terapia anti-retroviral, quimioterapia, trasplante de precursores hematopoyéticos y tratamientos antimicrobianos de amplio espectro. Estos tratamientos tienen como consecuencia que un número importante de pacientes sobrevive a su enfermedad de base pero, a su vez, son más susceptibles a infecciones por agentes oportunistas. Es así como un número creciente de hongos, que antiguamente se consideraban no patógenos, se han identificado como agentes causales de infecciones en este tipo de hospedero las infecciones invasoras por hongos son cuadros difíciles de reconocer, ya que tanto los síntomas como los signos clínicos son, a menudo, inespecíficos.

La candidiasis, conocida también como candidiasis vulvo-vaginal o CVV, es una infección micótica común que ocurre cuando hay sobre crecimiento del hongo llamado *Candida*. La *Candida* siempre está presente en el organismo en pequeñas cantidades. No obstante, cuando ocurre un desequilibrio, por ejemplo, cambios en la acidez normal de la vagina o cambios en el equilibrio hormonal, la *Candida* puede multiplicarse. Cuando esto ocurre, aparecen los síntomas de la candidiasis.

La candidiasis vulvo-vaginal es la segunda causa más común de infección vaginal. Afecta principalmente a mujeres entre 20 y 40 años.

El laboratorio de micología debe apoyar al médico clínico en el proceso diagnóstico de las infecciones fúngicas invasoras, disponiendo de técnicas adecuadas, rápidas y confiables, colaborando en el inicio de terapias antimicóticas apropiadas y precoces.

El aporte del trabajo de investigación, brindará datos valiosos del estudio e identificación hongos del género *Candida* con métodos más actualizados, la importancia se dará por el estudio técnico del objeto de estudio, para demostrar sus características específicas.

**Formulación del Problema**

¿Cuáles serán las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al Hospital Gineco-Obstétrico de la ciudad de Sucre 2011?

**Objeto de Estudio**

Hongos del género *Candida*.

**Campo de Acción**

Micosis vulvo-vaginal causada o producida por levaduras del género *Candida* en gestantes

**Objetivo General**

Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al hospital Gineco-Obstétrico de la ciudad de Sucre 2011.

**Objetivos Específicos**

- Determinar el porcentaje de micosis vulvo-vaginal en las gestantes que asisten a sus controles pre-parto
- Comprobar si la *Candida Albicans* es la más frecuente en las gestantes analizadas.
- Evaluar el comportamiento de los hongos del género *Candida* en diferentes procedimientos laboratoriales
- Establecer las particularidades de las diferentes especies de hongos del género *Candida*.

**Hipótesis**

La especie más común del género *Candida*, en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al Hospital Gineco-Obstétrico, es la *Candida Albicans*.

**Marco teórico****Caracteres generales y bases para la clasificación del género *Candida***

Desde los albores de la humanidad el hombre ha estado relacionado con los hongos, beneficiándose de ellos en unos casos, en otros siendo afectado ya sea directa o indirectamente por los daños que provocan en animales, plantas o en alimentos almacenados (Bennett & Klich; Quindós,).<sup>(6)</sup>

Galvada y Ruiz plantea que desde finales del siglo pasado se ha evidenciado un aumento de las enfermedades fungosas. Estando esto estrechamente vinculado a cambios producidos en la práctica médica como son: uso de fármacos que producen inmunosupresión (quimioterapia contra el cáncer, tratamiento con esteroides y tratamiento con inmunosupresores en pacientes con trasplantes de órganos), uso frecuente y a veces indiscriminado de antibióticos de amplio espectro que elimina la flora normal y el uso de catéteres intravenosos (Sevilla et al.; Santos et al.; Marr et al.,).<sup>(6)</sup>

Además, a estos cambios se une la aparición de enfermedades infecciosas que provocan inmunosupresión crónica como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Todo lo anterior ha hecho que los hongos, sean considerados en la actualidad, patógenos de importancia.

Dentro de las micosis, las producidas por levaduras del género *Candida* son las de más frecuente presentación contando con un gran número de formas clínicas dividiéndose en sistémicas y superficiales (rueda,).<sup>(6)</sup>

Tanto las candidiasis sistémicas como las superficiales tienen una gran importancia. Las primeras por involucrar varios órganos de diferentes sistemas, poniendo en riesgo la vida del paciente; mientras que las segundas por la gran cantidad de consultas médicas que genera.<sup>(6)</sup>

El tratamiento de estas afecciones en ocasiones se ve dificultado por la aparición de resistencia que son capaces de generar estos microorganismos a los antifúngicos de uso frecuente y por la relativamente alta toxicidad de los antifúngicos disponibles en el mercado.<sup>(6)</sup>

El propósito de esta revisión es brindar la información esencial sobre las levaduras del género *Candida*, importancia médica de las candidiasis, así como el tratamiento de estas.

La evaluación que es el resultado del grupo de los caracteres obtenida por las pruebas cuantitativas y cualitativas en el estudio de levaduras permite la selección de las especies de los diferentes géneros. De esta manera, la tipificación de las cepas se obtuvo a través del conjunto de las características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, genéticas, tipo de reproducción, aspectos macro-micro morfológicos de los cultivos, exigencias nutricionales, osmofilia, reacciones con los sueros específicos, etc.<sup>(6)</sup>

Las afinidades taxonómicas de las especies de *Candida* con otras levaduras han sido esclarecidas de los estudios más necesarios de sus ciclos de vida. Lacaz, C. da S.<sup>(7)</sup>

Por consiguiente; la identificación de las levaduras por los métodos convencionales es relativamente morosa. Varias técnicas se propusieron para la identificación rápida de las especies del género *Candida*, sobre todo *Candida albicans*, por ser esta la que determina mayor número de infecciones, tanto en el hombre como en los animales, siendo considerada la más patógena de todas.

Varios esquemas han sido formulados para hacer posible el diagnóstico rápido de *C. albicans* y de las demás especies del género, de interés médico. Los medios selectivos para la detección de clamidosporas fueron rescatados por varios autores.

Las propiedades de filamentación de *C. albicans* presentes en suero o plasma humano o de animales fue estudiada por Johnson<sup>(8)</sup>; Mackenzie<sup>(9)</sup>; Reynolds Y Braude<sup>(10)</sup>, en la albúmina del huevo; por Buckley y Van Uden<sup>(11)</sup>, y en el sustitutos del suero sanguíneo para Ahearn,<sup>(12)</sup> Joshi y col.<sup>(13)</sup>, con el objetivo de facilitar el diagnóstico clínico.

Así mismo, el estudio sistemático de las características macro-micro morfológicas y forma de reproducción (sexuada y asexuada) se vuelve posible para separar los géneros, normalmente, la *C. albicans* es un comensal del tracto gastrointestinal y genito-urinario del hombre, siendo el más frecuente agente etiológico entre las infecciones causadas por las levaduras de este y de otros géneros.

El origen de algunas especies de *Candida* estudiadas por Van Uden & Buckley<sup>(11)</sup>, Gentles & La Touche<sup>(14)</sup> y Joly<sup>(15)</sup> puede verificarse en la relación que continuación se menciona:

- *Candida albicans*: piel, uñas, sarro, tracto digestivo de las ovejas, plantas y hojas de té.
- *C. stellatoidea*: secreción vaginal.
- *C. krusei*: sarro, uñas, heces, leche (mastitis bovina); aire, gaviotas de mar, salmuera de conservas, cacao fermentado, uvas, guayabas.
- *C. guilliermondii*: tracto digestivo de bovinos, caballos, aves, agua de mar, cebolla, cuero de animales y aire.
- *C. tropicalis*: material clínico humano, leche (mastitis), camarones, leche fermentada (kéfir), piña.
- *C. pseudotropicalis*: sarro, pus, uñas, los productos lácteos (queso, crema), leche (mastitis bovino).
- *C. parapsilosis*: material clínico humano, animales (cerdos y caballos), insectos, hojas de té, pepino en conserva y madera.
- *C. humicola*: material clínico humano, tierra del bosque, árboles, champiñones macroscópicos y sapos.
- *C. viswanathii*: líquido cefaloraquideo (meningitis), sarro.
- *C. zeylanoides*: material clínico humano.
- *C. vini*: vino, cerveza.
- *C. rugosa*: heces de humano y de bovino; mantequilla, margarina y agua de mar.
- *C. curvata*: sarro, heces y orina de humano y de bovino (útero de la vaca).
- *C. norvegensis*: sarro, bilis, infiltrado abdominal, tracto digestivo del cerdo y mantequilla rancia.
- *C. bovina*, especie descrita por Van Uden & Carmo-Sousa <sup>(16)</sup> aislada de materia fecal de un bovino, presenta especificidad alta a este hospedero. Sin embargo, es menos específico en otros animales, han sido aislados también de cerdo, pavos y roedores. *C. bovina* crece lentamente a 20° C.
- *C. bovina* se transfirió para el género *Torulopsis* Berlese como *Torulopsis bovina* Van Uden Y Carmo-Sousa <sup>(16)</sup>.

El nombre genérico *Candida* fue introducido por Berikhou <sup>(17)</sup> para un grupo de levaduras anascosporadas que estaban, en ese momento incluidas en el género *Monilia* Van Uden & Buckley,

Algunas designaciones han sido impresas para *Candida albicans* en otras especies del género, pero la preferencia del nombre para *Candida* se dio por Langeron & Guerra <sup>(19)</sup>, Diddens & Lodder <sup>(20)</sup> y Lodder & Kreger-Van rij <sup>(21)</sup>.

El nombre *Candida*, fue aceptada por los especialistas en levaduras, se legalizó por el "IX Congreso Internacional de Botánica", realizado en Montreal en 1959.

Según Van Uden & Buckley <sup>(18)</sup>, en el diagnóstico del género *Candida* Berkhout <sup>(22)</sup> las células son globosas u ovoides, cilíndricas o prolongadas, a veces irregularmente formadas, normalmente son ovales apiladas o en forma de frasco.

La reproducción normalmente es por el brotamiento multipolar; células con el brotamiento aparentemente bipolar, normalmente no crecen con la base ancha.

La formación de pseudomicelio se encuentra en la mayoría de las especies y variedades. Frecuentemente el pseudomicelio se diferencia en pseudohifa y blastoforos, pudiendo formarse con verdadero micelio y clamidiosporos. Los artrosporos, ascosporos, teliosporos y balistosporos no son encontrados. Lacaz, C. da S.<sup>(7)</sup>

En cuanto al metabolismo, muchas especies de *Candida* presentan habilidades fermentativas y oxidativas, mientras que otras son estrictamente oxidativas. Conforme Silva-Hutner<sup>(23)</sup>, todos los carbohidratos fermentados son asimilados, sin embargo no todas las especies con habilidades asimilativas son también fermentativas.

En el género *Candida* están incluidas 81 especies de estas solo un grupo presentan positividad a la prueba de asimilación del nitrato de potasio, dicha prueba las separa en dos grupos, siendo 20 especies positivas y 61 negativas de asimilación de la sustancia ya referida. Las especies que pertenecen al género mencionado también diferenciadas de las pruebas de fermentación y asimilación de los carbohidratos, alcoholes etc., según Van Uden & Buckley<sup>(18)</sup>. Barnett & Pankhurst<sup>(24)</sup> ellos crearon, para todos los géneros de levaduras, nuevas claves dicotómicas de clasificación, bien como pruebas de fermentación y asimilación de los azúcares, del nitrógeno y de otros substratos para diferenciar las especies del género *Candida*.

Según McGinnis<sup>(25)</sup> 14 especies consideradas de interés médico como de *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. tropicales*, *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. húmica*, *C. vini*, *C. viswanathii*, *C. zeylanoides*, *C. arrugado*, *C. curvata* y *C. norvegensis* no asimilan el nitrato de potasio.

Para identificar las levaduras, Buckley<sup>(11)</sup> considera como el elemento esencial los criterios siguientes:

Producción de pseudomicelio y/o micelio verdadero:

- Fermentación de glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa;
- Asimilación de glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa y nitrato de potasio.

En términos de metabolismo, Vander Walt<sup>(26)</sup> marca como fundamentos las características fisiológicas para el diagnóstico de las levaduras, siendo más útil a la taxonomía aquella así mismo asociadas:

- La utilización de las fuentes de carbono y de nitrógeno;
- Exigencias nutricionales para el cultivo (adición suplementaria de nutrientes);
- Crecimiento a temperaturas elevadas;
- Desarrollo en medios especiales que contienen alto valor en carbohidratos y/o cloruro de sodio;
- Formación de metabolitos;
- Susceptibilidad de las levaduras a los antibióticos.

Las levaduras, se desarrollan en medios de cultivo con una sola fuente de carbono, ellos pueden fermentar o utilizarla por respiración. La asimilación oxidativa de carbohidratos y de nitrógeno de las especies de *Candida* está en la dependencia del sistema enzimático específico.

El método auxonográfico fue realizado por Beijerinck en 1889<sup>(28)</sup> y fue modificado pero también mejorado por Wickerham & Burton<sup>(29)</sup>; Davenport<sup>(27)</sup>; Lodder & kreger-van rij<sup>(21)</sup>

En este método se usan los medios basales sólidos y/o líquidos. La utilización oxidativa de un hidrato de carbono consiste en la habilidad de la levadura en asimilar un azúcar como única fuente de carbono, siendo la asimilación del nitrato de potasio la propiedad de la levadura en utilizar como única fuente de nitrógeno. En auxonograma el medio basal sólido, sin azúcar (1) y enriquecido con dextrosa (2), solo probó:

- 1) varios carbohidratos y alcoholes
- 2) Nitrato de potasio y control positivo (peptona, urea, aspargina, etc.) para el efecto comparativo con las 14 especies  $\text{KNO}_3$  negativas de *Candida* de interés médico.

Los medios basales sembrados con muestras que serán determinados, se agregan pequeñas alícuotas de azúcar en polvo o discos (cada uno embebido previamente en solución diferente de azúcar), colocados a intervalos regulares en la superficie de las placas para impedir la formación de los halos de crecimiento. La misma técnica es ejecuta para el asimilación de las fuentes de nitrógeno, la asimilación permite observar el crecimiento, es decir, el aumento del número de células de levadura a ser clasificado.

El crecimiento se verifica en el área donde el hidrato de carbono fue depositado, descubriéndose por la formación de un halo opacado, asimilativo de la levadura. La falta de crecimiento indica la ausencia de enzimas intracelulares. Las pruebas falso-negativas o positivas pueden pasar por mutación genética, involucrando las enzimas esenciales para la utilización oxidativa de los azúcares Silva-Hutner & Cooper,<sup>(23)</sup>

La asimilación del nitrógeno, Wickerham<sup>(29)</sup> observó que, adicionándose el suplemento apropiado de vitaminas al medio basal, se torna posible la asimilación de compuestos nitrogenados de algunas levaduras incapaces anteriormente asimiladas.

Este autor constato que la urea, sulfato de amonio, aspargina y la peptona son siempre asimilados, sirviendo como control positivo para el nitrato de potasio que es negativo para 61 especies de *Candida*.

Wickerham & Burton<sup>(29)</sup> consideran la prueba de asimilación como la habilidad de la levadura en utilizar determinados compuestos, y no la de reconocimiento de los varios metabolitos resultantes de la fermentación. La prueba de fermentación puede ser reversible, siempre y cuando los resultados permanezcan positivos.

La actividad asimilativa de los azúcares en los medios líquidos, en los tubos de ensayo, es verificada por la presencia o ausencia de turbidez, indicándonos el crecimiento o no de la levadura. El período de incubación de 24 días es necesario para el desarrollo del sistema de adaptación de las enzimas, inicialmente en estado latente.

Después de la agitación de los tubos, los mismos son colocados frente al cartón de Wickerham<sup>(29)</sup>. La transparencia o turbidez del medio líquido semejante es detectada por la visualización de las líneas del cartón ya referido.

La ligera turbidez del medio líquido después del último período de incubación no es considerada por Wickerham & Burton<sup>(29)</sup> porque la reacción puede ser a causa de impurezas de los carbohidratos.

El grado de asimilación es determinado turbidimetricamente, con auxilio del colorímetro o del uso del cartón de Wickerham<sup>(29)</sup>; Ahearn y col<sup>(12)</sup> estos últimos autores concluyeron que la agitación de los tubos de ensayo de la prueba de asimilación reduce el período de incubación, de tres semanas a una semana aproximadamente. La agitación de los cultivos durante el crecimiento permite el suministro uniforme y constante de oxígeno en todo el medio de cultivo, en cuanto a los cultivos no agitados el oxígeno no es distribuido uniformemente, fijando el concentrado en la superficie y fondo del tubo de ensayo.

La prueba de fermentación tiene por finalidad verificar la capacidad de la levadura en fermentar un azúcar, con producción de gas (dióxido de carbono). Puede ser efectuado en medios de cultivos líquidos (con tubos de Durham para recolectar gas producido), o en medios sólidos siempre que se utilice un indicador de pH, revelador de la presencia de ácidos, fijando el gas producido almacenado en el fondo del tubo de ensayo. Los estudios de fermentación están más sujetos a la verificación de los de asimilación.

La lectura final de las pruebas de fermentación Davenport<sup>(27)</sup> es efectuada después de 28 días de incubación de 25° a 28° C.

Los resultados son considerados negativos con la producción escasa de ácido o gas. Una escala arbitraria puede ser usada con el propósito de validar el poder fermentativo de las levaduras.

#### **Gas colectado en el tubo de durhan fermentación**

- Tubos totalmente llenos de gas en 7 días
- +
- Tubos llenos de gas en 28 días débil
- Tubos con pequeña cantidad de gas en 28 días débil

La hidrólisis de la urea en algunas especies de *Candida* ocurre por acción de la ureasa intracelular. El *C. humicola* hidroliza la urea, por Ej. La *C. krusei* y *C. curvata* pueden o no producir ureasa, variación genética.

La resistencia de la cicloheximida (*Actidiona*) puede ser constatada en algunas especies, como *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. pseudotropicalis*, *C. guilliermondii*.

Los blastosporos de *Candida albicans* alcanzan diámetro de 1,5 a 5 micras, en cuanto a los clamidosporos, de pared de celular espesa miden 6,9 a 12,7 micras, siendo estructuras esféricas, refractadas BAKER SPIGEL<sup>(22)</sup> y ácido alcohol resistentes Lodder & La Col.,<sup>(21)</sup>

*Candida albicans* tiene la habilidad en atacar a la creatina "in Vitro", utilizando una fuente única de nitrógeno Kapica & Blank, <sup>(30)</sup>.

### **Criterios tomados para identificación de las especies del género *Candida***

#### **Aspecto de las colonias en medios de cultivo sólidos, en cajas Petri**

- Las colonias varían en cuanto a color, siendo generalmente blancas, cremas, ligeramente color ceniza o rosáceas. No presentan pigmentos carotenoides.
- La textura es cremosa o membranosa, de superficie rugosa, surcada, lisa, opaca o brillante.
- De modo general, las formas de las colonias son circulares con bordes, regulares o irregulares.

#### **Características de los cultivos en medio líquidos**

La ausencia o presencia de sedimento, flocos, tipos de película o anillo son elementos que ayudan en la determinación de *Candida*, otras especies de este género, pueden formar película y/o anillo, sedimento etc.:

- *Candida krusei*.- película opaca o adherente al tubo de ensayo:
- *C. tropicalis*.- anillo con burbujas de gas y sedimento;
- *C. membranaefaciens*.- película y flocos;

- *C. diddensi* y *C. glabrosa* anillo y flocos (esta última especie se caracteriza por presentar micelio rudimentario en el cultivo de lámina);
- *C. ingens* y *C. solani*.- película rugosa;
- *C. albicans* no forma película en el anillo, apenas un sedimento polvoriento.

#### **Estudio microscópico**

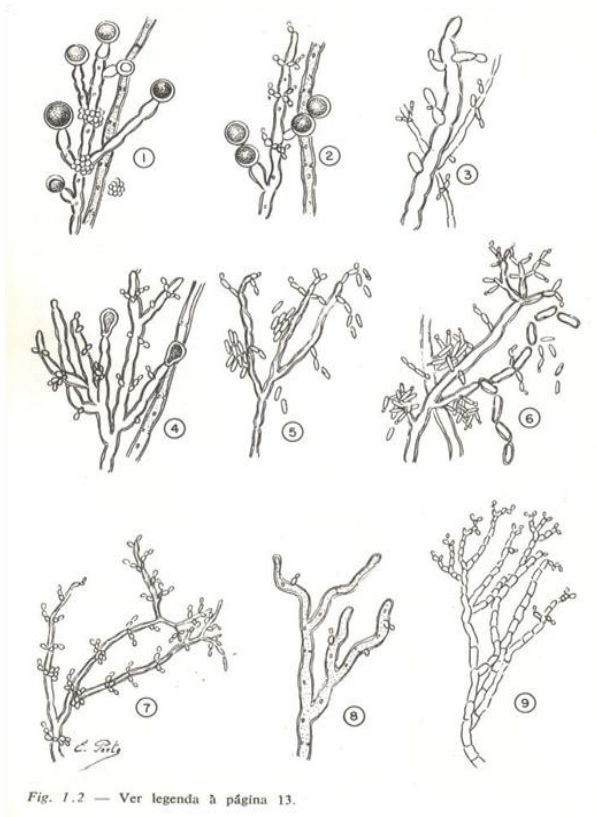
Para el estudio de la forma de los blastosporos, de reproducción vegetativa y el tamaño de las células en las diferentes especies debe ser realizada a partir de los cultivos en medios líquidos.

Extendidos de cultivo o de material clínico teñidos por el método de Gram permiten separar las bacterias de las levaduras y otros microorganismos. Los blastosporos, pseudomicelio y demás estructuras son Gram-positivas.

#### **El cultivo en portaobjetos**

El cultivo se puede realizar tanto en portaobjetos rivalier & Seydel<sup>(31)</sup>, así también en caja de Petri, es empleado para el estudio de la micromorfología, las características del pseudomicelio, pseudo-hifa, hifa verdadera, forma y disposición de los blastosporos, presencia o no de clamidosporos, permiten, cuando están asociadas a su comportamiento fisiológico diferenciarlas según su especie.





**Figura 1** La micromorfología de especies del género *Candida* en cultivos en portaobjetos, en medio de ágar-harina de maíz tween 80, después 24-72 h de incubación a 25°C.

### **Candida albicans**

Se caracteriza por presentar clamidosporos globosos, terminales, de espesa pared celular, a veces en gran número. El pseudomicelio es abundante y ramificado y el micelio verdadero puede ser encontrado en los cultivos más viejos. Los Blastosporos ovoides o globosos reunidos generalmente en forma de bola. La hifa verdadera posee varios septos, al contrario de la pseudo-hifa que nos muestra un número escaso;

### **Stellatoidea**

Se diferencia de la *C. albicans* apenas por la escasa producción del clamidosporo, que en el caso de estar presentes, se encuentran dispuestos en cadenas de 2 a 3 células. Los Blastosporos ovoides pueden ser observados en cadenas más o menos verticales

### **Parapsilosis**

En esta especie el pseudomicelio forma células gigantes que se diferencian fácilmente cuando comparamos al pseudomicelio constituido de células pequeñas. El pseudomicelio generalmente es bastante ramificado, verificándose en sus constricciones pocos blastosporos dispuestos en verticilos. Los Blastosporos globosos y/o ovoides ligeramente alargados pueden ser observados;

### **Tropicalis**

Produce pseudomicelio abundante y ramificado, con verticilos de blastosporos dispuestos en cadenas simples, irregulares o ramificadas. El micelio verdadero puede estar presente en cultivo. Los blastosporos son ovoides o semiglobosos. El Clamidosporo en forma más o menos periforme (en gota o lágrima) puede estar formado;

### **Pseudotropicalis**

El pseudomicelio es abundante y ramificado en algunas cepas es escaso en otras, los Blastosporos alargados o cilíndricos, en disposición verticilada. Los blastosporos se destacan fácilmente, confiriendo a los cultivos la impresión de toros o pequeños barcos, unidos unos a otros;

**Krusei**

Presenta pseudomicelio constituido de células alargadas y delgadas, ramificándose como tallos de árbol. Los Blastosporos ovoides y predominantemente cilíndricos, dispuestos verticiladamente en las constricciones del pseudomicelio. Los blastosporos se desintegran fácilmente, permaneciendo a los lados del pseudomicelio en pequeños aglomerados, asemejándose a palitos amontonados de fósforos entrecruzados. El crecimiento en un cultivo en lámina es opaco, aspecto más evidente en una macro colonia;

**Guillerrmondii**

La formación del pseudomicelio es variable, siendo generalmente muy fino y ramificado. Los Blastosporos ovoides o cilíndricos, cortos, en posición más o menos verticilada, en las constricciones pseudomicelio y/o pseudo-hifa;

**Curvata**

El pseudomicelio y/o pseudo-hifa son largos y curvados, presentando escasos blastosporos ovoides en forma de salchicha, frecuentemente curvados. La forma de los blastosporos es la mejor evidencia en los cultivos en medio líquido;

**Rugosa**

El pseudomicelio es bastante ramificado y abundante, constituido exclusivamente de pseudo-hifas cortas. Los blastosporos, cuando están formados son escasos. En medio líquido del cultivo, los blastosporos son ovoides o alargados en forma de salchicha.

La candidiasis vaginal es una causa frecuente de morbilidad en mujeres en edad fértil. Aproximadamente 75% de todas las mujeres adultas padecen, al menos, de un episodio de candidiasis vaginal en algún momento de su vida, y 45 % tienden a desarrollar más de un cuadro de candidiasis vaginal, adquiriendo en muchos casos (5-7%), un carácter crónico que se manifiesta por episodios recurrentes con poca respuesta a la terapéutica.

La presencia de especies de Candida en la vagina como constituyentes de la flora microbiana normal está bien documentada y es un elemento que complica el diagnóstico de esta afección, pues no se ha precisado con exactitud, cuándo la cantidad de levaduras presentes en la vagina tiene significación patológica o debe, por el contrario, ser interpretada como simple comensalismo.<sup>2</sup> Candida albicans es responsable de más de 85% de los episodios iniciales y recurrentes de candidiasis vaginal, pero también C. tropicales y C. krusei son reportadas con frecuencia.<sup>2,3</sup>

Más recientemente, también se asocia a Candida dubliniensis con este tipo de infección, pues aunque fue descrita por primera vez, relacionada con aislamientos a partir de candidiasis oral en pacientes seropositivos al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), ha sido además, aislada de pulmones y vagina tanto de portadores como no portadores del VIH 4.5. El hecho de que esta levadura comparta características fenotípicas con C. albicans constituye otro aspecto a vencer en el diagnóstico.

Ambas especies forman tubos germinativos y clamidosporas y crecen sin dificultades en los medios de cultivo micológicos convencionales, a 30 y 37 °C.6-8

Para diferenciar a *C. albicans* de *C. dubliniensis* se sugiere la determinación del tipo de clamidosporas que producen, observar la coloración de las colonias con medios diferenciales, así como comprobar la inhibición del crecimiento a 42°C, lo que constituye una característica distintiva de *C. dubliniensis*. No obstante, las pruebas más confiables para distinguir a ambas especies son las basadas en técnicas moleculares.<sup>(32)</sup>

### Utilización de los compuestos de carbono

**Fermentación** (producción de etanol y dióxido de carbón)

### Asimilación de las fuentes de carbono y de nitrógeno

Según Van Uden & Burckley<sup>(18)</sup> para diferenciar las especies con asimilación positiva o negativa de  $KNO_3$ , aisladas de la naturaleza, bien para pruebas fermentativas, son usadas: hexosas, disacáridos, trisacáridos, pentosas y alcoholes a seguir relacionados:

Para las especies del género *Candida*  $KNO_3$  positivo

- Fermentación: la glucosa y sacarosa;

Asimilación: maltosa, sacarosa, celobiosa, lactosa, melibiosa, rafinosa, inulina, L-ramnosa, eritritol, ribitol y glucitol.

### Especies $KNO_3$ negativas

Fermentación: glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa y trialosa. Entre las 14 especies de interés médico, algunos no presentan habilidad fermentativa de los carbohidratos. La fermentación de la galactosa, glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa y trialosa es negativo para *Cándida humicola*, *C. curvata*, *C. rugosa* y *C. vini*. La fermentación de la glucosa pueden ser débilmente en *C. norvegensis* y negativo o débilmente *C. zeylanoides*.

Siendo negativa la fermentación de los otros azúcares, ya mencionados McGinnis<sup>(25)</sup>. La lactosa es exclusivamente fermentada por la *C. pseudotropicalis*, no siendo este azúcar fermentado por las otras especies abajo mencionado, en la prueba de asimilación.

Asimilación: galactosa, sorbitol, sacarosa, maltosa, celobiosa, trealosa, lactosa, melibiosa, rafinosa, melizitosa, inulina, almidón soluble, D-xilosa, L-arabinosa, D-arabinosa, D-ribosa, L-ramnosa, glicerol, eritritol, ribitol, galactitol, manitol, glucitol e inositol.

### Crecimiento a temperaturas elevadas

La termo-tolerancia se verifica en una tira de temperatura entre 43° a 47° C en varias especies de *Candida*, siendo óptima la comprendida entre en 25° a 28° C.

### Producción de los tubos germinativos

La germinación de los blastosporos después de 2 a 3 horas de incubación a 37° C en suero y en plasma sanguíneo, clara de huevo, etc., es un método eficiente en la identificación rápida de *C. albicans* y *C. stellatoidea*. Efecto r.B.”-reynolds & Braude<sup>(10)</sup>

### La prueba de asimilación de la sacarosa

Separa en dos especies. *Candida stellatoidea* (sacarosa negativa) puede ser considerada como variante alfa-glucosidasa negativa de *C. albicans*, la cual asimila la sacarosa Ahearn<sup>(12)</sup>.

### La resistencia cicloheximida e hidrólisis de la urea

Complementan, en conjunto con las demás pruebas, la identificación rutinaria de las especies. Entre otras, son resistentes a la cicloheximida *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. guilliermondii* y *C. pseudotropicalis*, esta última especie puede presentar ureasa intracelular Silva-Hutner<sup>(23)</sup>

### Patogenicidad para animales de laboratorio

La inyección venosa de 1 ml de la suspensión al 1% del cultivo de *Candida albicans* en suero fisiológico es letal para conejos después de 4 a 7 días de inoculación, con formación de abscesos en los riñones y corazón.

La autopsia, de los riñones muestra hipertrofiados e hiperémicos, con micro abscesos blanco amarillento distribuidos en la región cortical es menos intensamente en la medular (Benham, 1931). *Candida albicans* tiene tropismo para el riñón del conejo. Gresham & Wittle<sup>(33)</sup>.

La inoculación subcutánea de la suspensión en suero fisiológico de *Candida stellatoidea* en conejo no forma micro abscesos en riñones, cuando la vía de inoculación es venosa, se puede constatar el cuadro típico, con conejos presentando la cabeza en opistótono Gentles & La Touche,<sup>(14)</sup>

Según Hurley<sup>(34)</sup>, en determinadas condiciones de experimentación, *Candida parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. krusei* son patogénicas, siendo letales para los hospederos. *Candida tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea* y *C. viswanathii* obedecen también a los postulados de KOH, siendo la patogenicidad de las mismas demostrables en animales no inmunodeprimidos, ahora no en todos los hospederos son igualmente susceptibles. Todas han sido aisladas de lesiones micóticas del hombre y algunas de animales espontáneamente enfermos.

La patogenicidad de otras especies encontradas con menor frecuencia en el hombre, generalmente *C. zeylanoides*, *C. humicola*, *C. genitilis* y *C. sloffii*, más aisladas de cobayos y jabalís aguardan estudios experimentales. Otras especies de *Cándida* pueden producir lesiones, según Louria<sup>(35)</sup>, ellas son raramente letales para animales que no habían sido previamente tratados con corticoides u otras drogas inmunodepresoras, el más importante componente de la estructura antigénica de la pared celular de las levaduras es representado, conforme Gresham & Wittle<sup>(33)</sup>, por los polisacáridos.

Mackenzie & Col.<sup>(9)</sup> observaron que las células vivas de *C. albicans* estimulaban, en los ratones, la infección tuberculosa experimental, los autores concluyeron que esta actividad era debido a la fracción de polisacárido, específicamente a la dextrina, contenida en las células de la levadura.

La inoculación intradérmica y/o subcutánea de células vivas de *C. albicans* en cobayos, conejos y ratones causa formación de nódulos inflamatorios con porción necrótica central, el microorganismo es eliminado con pus y células necrosadas, dando lugar a la formación de úlcera que cicatriza gradualmente. Lesión semejante, pero menos extensa, y producida por células de *Candida albicans* formalizadas y lavadas Winner & Hurley<sup>(29)</sup>. Louria & col.<sup>(35)</sup> demostraron que el único tejido que sufría infección progresiva eran riñones de ratones después de la inoculación venosa y concluyeron que la cortisona activaba la infección renal. Roth & col.<sup>(36)</sup> y McGinnis<sup>(25)</sup>.

### Ecología de las levaduras del género *Candida*

Las levaduras del género *Candida*, Berikhou 1923, están ampliamente distribuidas en la naturaleza, pudiendo algunas especies vivir en vida saprofítica o parasitaria en el organismo del hombre y de otros animales.

La candidiasis afecta normalmente las zonas húmedas y cálidas de la piel y las mucosas, como las axilas, la boca, uñas, el glande y la vagina; las erupciones cutáneas asociadas con el uso de pañales suelen ser de este tipo. Representa un 25% de las micosis cutáneas.

La candidiasis es la más frecuente causa de vaginitis; se estima que tres de cada cuatro mujeres experimentan al menos un episodio de candidiasis durante su vida. *Candida albicans* es parte de la flora normal de la vagina; las condiciones patógenas pueden producirse por el uso de duchas que eliminan parte de los microorganismos que lo controlan (como los lacto bacilos).

Las probabilidades de contraer candidiasis aumentan en pacientes obesos y diabéticos; el consumo de antibióticos y anticonceptivos también incrementa el riesgo, así como alteraciones hormonales debidas al embarazo.

En pacientes con deficiencia inmunológica, neoplasias, diabetes, lupus eritematoso, y linfomas, la infección puede extenderse, con consecuencias graves.

El género *Candida* fue consagrado como *nomen conservandum* en el 9º Congreso Internacional de Botánica, realizado en Montreal (Canadá) en 1959, substituyendo antiguas denominaciones muy utilizadas en la terminología médica, como *Oidium* e *Monilia*. En libros escritos sobre levaduras, Van Uden & Burckley<sup>(18)</sup>, el clásico libro *The Yeasis*, coordinado por Lodder<sup>(21)</sup>, 81 especies fueron consideradas válidas, aisladas de fuentes diversas.

Al estudiar la ecología de las levaduras del género *Candida* y sus diversos ecosistemas, debemos referir que existen especies eurítipas, que viven en varios hábitáculos, al contrario de otras, estenótipas, de distribución limitada.

Tal es el caso de la *Candida albicans* Berikhou,<sup>(17)</sup> raramente aislada del aire atmosférico, y más ocurriendo como agente oportunista en el hombre y en los otros animales, en la dependencia del biótomo o ecótomo, como de otros seres vivos que componen el ecosistema, estas levaduras van a encontrar su hábitat preferido.

Grupo heterogéneo de especies se encuadra en el género *Candida*, del suelo, el agua, del aire atmosférico y de vegetales en descomposición aisladas estas levaduras, algunas presentan intensa actividad proteolítica, se sabe que algunos productos de proteólisis de la *Candida albicans* son nutrientes para determinadas bacterias, como *Staphylococcus aureus*. Levaduras del género *Candida* como especie tipo *Candida vulgaris* (*Candida tropicalis*).

Del suelo varias levaduras del género *Candida* ya fueron aisladas, también de vegetales en descomposición, de aguas servidas y arena de playas.

Winner & Hurley <sup>(37)</sup>, en su libro *Candida albicans*, en el capítulo sobre Ecología, refieren que esta levadura vive como comensal o patógeno, en el hombre y en varios animales, también como en el suelo y agua, siendo raro su aislamiento del aire atmosférico. Las levaduras del género *Candida*, principalmente la *Candida albicans*, vive normalmente en la orofaringe, en los pliegues de la piel, en procesos carióticos, en la secreción bronquial, vagina, orina y heces. Así mismo, la presencia de levaduras del género *Candida* en la boca y oro-faringe está condicionada a una serie de factores, tales como higiene bucal, deficiencias nutricionales diversas, presencia de diabetes, disminución de la resistencia de la mucosa gingival por la acción prolongada de alcohol o cigarro, arriboflavínica etc.

El sarro, principalmente de los fumadores crónicos con secreción matinal abundante, en los portadores de neoplasias, abscesos pulmonares, bronquiectasias y tuberculosis, puede vincular rica flora bacteriana y fúngica, incluyendo en este último caso, levaduras del género *Candida*, tales como la *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* etc. en el caso particular de la piel, se verifica que, en los pliegues interdigitales, también en los surcos mamarios, cuando la sudoración es abundante, o cuando se utilizan pomadas a base de corticoides. *Candida albicans* puede ser aislada con mayor facilidad.

Con relación de las heces, en 1970, en colaboración con Rivalier & Seydel <sup>(31)</sup> se verificó que la Prevalencia de *Candida albicans* en niños con o sin diarrea fue siempre elevada con un porcentaje de 86% y 82% respectivamente, la participación de esta levadura en la diarrea del lactante es mínima, a no ser que se practique repetidas veces su aislamiento, observándose en las heces la fase filamentosa, una de sus señales de virulencia.

En todos los casos donde se observó Candidiasis bucal, el aislamiento de la *Candida albicans* también se ve a través del cultivo de heces. No se puede negar la existencia de casos comprobados de enteritis por *Candida albicans*, principalmente en niños desnutridos, sometidas durante largo período con antibioticoterapia con tetraciclina, en pacientes inmunodeprimidos por enfermedades graves.

En secreciones vaginal es común la presencia de levaduras del género *Candida*, principalmente la *Candida albicans*, mismo en la ausencia de inflamación.

En gestantes, principalmente en lo último trimestre de gravidez, debido al aumento del glucógeno vaginal, por la acción de la estrina, las levaduras encuentran terreno propicio para su proliferación, provocando la vulvo-vaginitis blastomicética.

De acuerdo con el grado de higiene vulvo-vaginal, pH de la secreción, con la presencia o no de bacilos de Dóderlein, la asociación o no de *Trichomonas vaginalis* o de otros microorganismos, la intensidad del proceso inflamatorio puede variar, con la presencia de prurito, que es debido a productos metabólicos de la *Candida albicans* o de otras especies. En 1996 Silva-Hutner <sup>(23)</sup> en 150 gestantes verificaron la presencia de levaduras del género *Candida*, ha sido aislada la *Candida albicans*, en 37 casos (24,6%), en 150 mujeres no embarazadas, 28 cultivos fueron positivas (14,2%). Estos datos confirman otros de la literatura, de que realmente la gestación favorece la proliferación de levaduras del género *Candida* en el medio vaginal. Todo hace pensar también que el empleo de anticonceptivos favorece el crecimiento de hongos levaduriformes en la secreción vaginal.

En ambientes hospitalarios, en los pacientes politraumatizados, quemados graves, internados en unidades de terapia intensiva, con sondas y catéteres después de tratamientos prolongados con antibióticos, corticoides y otros, la contaminación por levaduras del género *Candida* puede ocurrir en aparatos de traqueotomía o sondas, en contacto con heces u orina de los enfermos.

De esta manera, se explica la presencia de candidiasis sistémica, infecciones pulmonares y en otros órganos, detectados por el examen micológico correcto en pruebas serológicas adecuadas, interpretadas siempre a luz de los datos clínicos.

Del punto de vista ecológico, considerándose la comunidad biótomo en lo que respecta a los hongos levaduriformes del género *Candida*, se verifica que su distribución es la más amplia, que en el medio ambiente, haciendo parte de la flora del hombre y de otros animales.

Murillo De Linares & Marin <sup>(38)</sup>, estudiando la frecuencia de levaduras del género *Candida* como patógenos o constituyentes de la flora humana normal, verificaron, en San Salvador, que en 105 individuos, de los cuales 102 eran mujeres, levaduras del género *Candida* fueron aisladas en 57 casos (54%).

La distribución de levaduras del género *Candida* aisladas de diferentes áreas anatómicas en 105 individuos Según Murillo De Linares & Marin <sup>(38)</sup>. Heces, boca, orina y piel (en este último caso piel del brazo directo).

Todas las muestras fueron identificadas, perteneciendo a 5 especies: *Candida albicans* fue la más frecuente aislada (44 muestras), *Candida parapsilosis* (23 muestras) y *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida guilliermondii* aisladas menos frecuente. El número de especies aisladas de cada una de aquellas fuentes que se encuentran en la Tabla 5

Fuente	Candida	Candida	Candida	Candida	Candida	Total
	albicans	parapsilosis	tropicalis	krusei	guilliermondii	
Vagina	18(17) <sup>a</sup>	7(7)	1(1)	1(1)	3(3)	30(29)
heces	7(7)	5(5)	5(5)	5(5)	3(3)	29(26)
Boca	8(8)	4(4)	3(3)	3(3)	1(1)	18(18)
orina	10(10)	3(3)	1(1)	1(1)	2(2)	17(17)
Piel	1(1)	4(4)	2(2)	2(2)	2(2)	10(10)
Total	44(43)	23(23)	12(12)	12(12)	11(11)	102(100)

**Tabla 1** Distribución de especies de candida, de acuerdo con su fuente de aislamiento

El primer número representa el número de muestras; el número entre paréntesis es el porcentaje en relación de las 102 muestras aisladas

### Métodos micológicos utilizados de rutina en la identificación de levaduras del género candida

La elevada incidencia de infecciones atribuidas a las especies del género Candida, en especial a *C. albicans*, han enfatizado a los especialistas en micología médica para la necesidad de nuevos métodos de diagnóstico micológico, con el objetivo de clasificar, con precisión, las especies aisladas del material clínico.

Entre las demás micosis, las infecciones por *Candida albicans* se hallan entre las más comunes que afectan la especie humana y los animales. La colaboración entre el médico y el micólogo es esencial, a fin de llegar a concluir sobre el papel del posible agente etiológico verificado y posterior identificación laboratorial, se ha considerado que ciertas especies del género pueden ser encontradas en individuos normales. La presencia de *Candida* en muestras de sangre, normalmente estériles, y significativa en el diagnóstico micológico, la importancia del encuentro de las levaduras de ese género en materiales naturalmente contaminados, como sarro, orina y piel, debe ser confirmada cuidadosamente, en base a los datos clínicos. Para la identificación de las especies del género *Candida*, una variedad de recursos han sido preconizada por innumerables autores, siendo clásicos los indicados por Lodder<sup>(21)</sup>.



## Examen directo

Para el diagnóstico presuntivo, se torna necesario el examen microscópico (directo o tinción de Gram) del material clínico. Valiosas informaciones pueden ser obtenidas a partir de este examen, tales como: cantidad de levaduras presentes; presencia o ausencia de pseudomicelio; diámetro de las levaduras y número de brotamiento; presencia o ausencia de células capsuladas, para descartar el diagnóstico de la criptococosis.

El material clínico a ser examinado puede ser el más diverso posible, incluyendo raspado de piel y uña, secreciones, sarro, pus, líquido, orina, material de biopsia y necroscopia, raspado de piel y uña son examinados entre porta y cubreobjetos, utilizándose KOH del 10-20% como clarificante, permitiendo mejor contraste en la visualización de los hallados micológicos. En cuanto a las otras muestras biológicas no necesitan de aclaración previa.

En los materiales de biopsia y autopsia, además del examen micológico, son efectuados exámenes histopatológicos, si es necesario, los frotis pueden ser coloreados por los métodos de Tinción de Gram, Ziehl-Neelsen y Giemsa. Los blastosporos y pseudomicelio de las levaduras se colorean positivamente por el método de Gram. Según Lodder <sup>(21)</sup> las especies de *Candida* aparecen en materiales clínicos sobre la forma de células ovales, con brotamientos y pseudomicelio, siendo que la predominancia de una de esas dos formas depende del tiempo y gravedad de la lesión.

En 1957, Murillo De Linares & Marin <sup>(38)</sup> observaron que la formación de filamentos coincidía con el desarrollo de los síntomas clínicos.

En 23 casos de candidiasis de la piel y uña, observaron que el pseudomicelio era más numeroso cuanto más graves eran las lesiones, en la identificación de las levaduras, Mackenzie <sup>(9)</sup> afirma que debe ser considerada la proporción relativa entre formas levaduriformes (L) y micelias (M), pues es indicativa del grado de desarrollo del hongo en condiciones patológicas. Tal observación fue confirmada por Hurley & Stanley <sup>(34)</sup>. Según Berikhout <sup>(17)</sup>, el diagnóstico de candidiasis se basa primordialmente en el encuentro de formas filamentosas en el material clínico. Burckley <sup>(17)</sup> recomienda la dilución de las muestras de orina en placas contenidas en agar Sabouraud enriquecido de antibióticos antibacterianos. Según Ahearn & col. <sup>(12)</sup> la concentración de levaduras en la proporción de 10 por ml de orina es indicativa de infección.

## Aislamiento

En exámenes de rutina, los medios para aislamiento de levaduras como agar-Sabouraud o agar-Malta adicionados con cloranfenicol-O, 1 mg/ml o penicilina y estreptomina (respectivamente 20 U/ml e 40g/ml), inhiben el crecimiento de bacterias. Ciertas especies de *Candida*, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. rugosa*, son sensibles a la cicloheximida (Actidione), en la concentración de 0,5 mg/ml.

Para hemocultivos se recomienda el empleo de frascos contenido de una capa de agar-Sabouraud y otra de caldo-Sabouraud. De esta forma, el caldo diluye algunos anticuerpos y otros inhibidores de sangre, estimulando la multiplicación de las levaduras.

### **Identificación de la candida albicans por la propiedad de formación de tubos germinativos**

La producción de tubos germinativos es rápida y presuntiva en la identificación de *C. albicans* y *C. stellatoidea*.

En 1990, Taschdjian & Col. <sup>(39)</sup> propusieron una técnica simple para la verificación de esta propiedad, consistiendo la prueba en la suspensión de la levadura en 0,5 ml de suero sanguíneo, seguida de incubación a 37°C y examen microscópico después de 90 minutos. En caso negativo, los cultivos son nuevamente incubados por 2 a 3 horas. Según Reynolds & Braude <sup>(10)</sup> y Mackenzie <sup>(9)</sup> La germinación de los blastosporos después de 3 horas de incubación a 37°C en suero, plasma sanguíneo, líquido y clara de huevo Burckley & Van Uden <sup>(11)</sup>, es un método eficiente en la identificación rápida de *C. albicans* fue utilizado suero de bovinos, equinos, ovinos y de perros en la inducción de tubos germinativos, con buenos resultados Taschdjian & col. <sup>(39)</sup>.

Un pequeño porcentaje de pruebas falso-negativas es comúnmente atribuido:

- Inoculos contenidos con exceso de blastosporos en relación al volumen de suero Ahearn, <sup>(12)</sup>; Joshi & col., <sup>(13)</sup>; Mackenzie, <sup>(9)</sup>;
- Cultivos viejos, presentando células con vitalidad disminuida Ahearn, <sup>(12)</sup>;
- Cultivos contaminados con bacterias

En la demostración de factores físicos que influyen en la inducción de la producción de tubos germinativos, Berikhout <sup>(17)</sup> observo que la cantidad de inóculo más apropiada es de 7.500 a 10.000 células por mm<sup>3</sup>, siendo 1 ml el volumen adecuado de plasma, se evidencia la producción escasa a 37°C, siendo óptimo el período de 3 horas incubación. Para evitar la inhibición en producción de los tubos germinativos, provocada por el gran número de blastosporos, Joshi & col. <sup>(13)</sup> se recomienda la suspensión de 2 o 3 colonias en 0,5 ml de agua destilada estéril, utilizándose una gota de esa suspensión para la siembra.

### **Cultivo en portaobjetos**

Técnica comúnmente utilizada consiste en distribuir al medio de cultivo fundido, distribuir hasta formar película sobre un portaobjetos, conservado en caja de Petri, después de la solidificación del medio, la levadura en estudio es sembrada en finas estrías, recubriéndose con un cubreobjetos, manteniendo la humedad necesaria para el crecimiento de la levadura, embebiéndose una pequeña porción de algodón hidrófilo con agua esterilizada.

La incubación es efectuada a 37°C durante 1 a 5 días, procediéndose, entonces, al examen microscópico para observar la morfología de la levadura.

Para los cultivos en lámina y/o placas de Dalmau <sup>(40)</sup>, han sido utilizadas grandes variedades de medios selectivos para la morfología de las levaduras, siendo generalmente empleado agar-harina de maíz; Lodder & Kreger-Van rij <sup>(21)</sup>; Van Der Walt <sup>(26)</sup>; el Tween 80 (sorbitana polioxietileno monooleato) es adicionado a los medios en la proporción de 1%, induciendo la producción de los clamidosporas.

El Tween 80 provoca disminución de la tensión superficial en los medios de cultivo, favoreciendo el desarrollo de las clamidosporas.

Estudios comparativos con diversos medios de cultivo fueron efectuados por Gresham & Wittle<sup>(33)</sup>.

### **Asimilación de carbohidratos y alcoholes**

Existen varios métodos para la realización de esta prueba:

#### **Auxograma o asimilación de carbohidratos de Beijerinck<sup>(28)</sup>**

Utiliza medio sólido ausente de cualquier fuente de carbono.

En 1952, Lodder & Kreger-Van rij<sup>(21)</sup> indicaron el medio basal conteniendo agar, sulfato de amonio, fosfato de potasio monobásico, sulfato de magnesio heptahidratado, para la realización de esta técnica. En la ejecución de la prueba el medio semi sólido es atemperado a ( $\pm 45^{\circ}$  C), posteriormente vertido en una caja de Petri sobre la suspensión de la levadura a ser estudiada después de la solidificación del medio, se coloca pequeñas cantidades de carbohidratos en polvo en la superficie del mismo.

La prueba es positiva con la formación de un halo de crecimiento alrededor del azúcar asimilado y, en caso negativo, no se verifica dicho halo. Según Van Der Walt<sup>(26)</sup>, esta técnica posibilita la lectura de los resultados entre 2 a 4 días.

### **Asimilación de nitrato**

La habilidad de la levadura en utilizar el nitrato como única fuente de nitrógeno es evaluada por las mismas técnicas ya mencionadas, variando apenas en la composición del medio basal, ausente de nitrógeno y enriquecida con dextrosa.

### **Zimograma o fermentación de carbohidratos**

Las pruebas de fermentación de carbohidratos son útiles en la identificación de las levaduras, a pesar de ser más sujetas a variaciones que los test de asimilación.

La única evidencia de la fermentación de carbohidratos por las levaduras es la formación de dióxido de carbono, siendo su detección efectuada a través del tubo de Durham. Según Lodder & Kreger-Van rij<sup>(21)</sup>, que adoptaron la primera técnica, ese proceso es el más sensible.

Actualmente los tubos de Durham son más empleados, asegurando mejores resultados, el inconveniencia de su uso consiste en cuidado que se debe de tener en la observación diaria, después el líquido tiende a reabsorber el gas formado Joshi,<sup>(13)</sup>.

En la prueba de fermentación, medios basales líquidos conteniendo apenas extracto de levadura en solución acuosa y/o extracto de levadura-peptona propuesto por Wickerham<sup>(29)</sup> ofrecen buenos resultados.

Van Der Walt <sup>(26)</sup> recomienda la disolución de los azúcares en el medio basal, en la proporción de 2%, exceptuando la rafinosa, utilizada en mayores concentraciones (4%),

Wickerham <sup>(29)</sup> adiciona azul de bromotimol al medio de cultivo y utiliza 0,1 ml de la suspensión de la levadura a ser examinada en agua destilada estéril, la incubación es efectuada a 25-28°C, con observación hasta 24 días. El medio basal empleado por Silva-Hutner <sup>(23)</sup> contiene peptona, extracto de levadura y púrpura-bromocresol, como indicador, con pH final 7,0. Según Burckley <sup>(11)</sup>, el uso de indicador no es necesario, siendo 3% la cantidad de azúcares utilizados, con excepción de la rafinosa (6%).

### Pruebas complementarias

- **Hidrólisis de la urea** la hidrólisis de la urea es acentuada en los géneros *Cryptococcus* y *rhodotorula*, y también en algunas especies de *Candida* y *Trichosporon* también podrían presentar esta propiedad. En esta prueba, la levadura es sembrada en agar-Urea de Christensen <sup>(41)</sup>, incubándose a 25° C y observándose diariamente, a los 5 días. En su composición, este medio contenido, agar, peptona, dextrosa, clorito de sodio, fosfato de potasio monobásico, urea y rojo fenol como indicador, la reacción positiva es demostrada por la alteración en la coloración del medio, inicialmente amarillo, tornándose de rosa a rojo por la alcalinización y consecuente viraje del indicador.

- **Crecimiento en medio líquido** El crecimiento en medios líquidos, tales como extracto de malta o agua peptonada-extracto de levadura, las levaduras pueden formar sedimento, anillo o película, la formación de película en medios líquidos está estrictamente relacionada con la necesidad de oxígeno por la levadura. En el pasado, de considerable importancia fue la formación de película y esta propiedad es todavía de cierto valor en la caracterización de algunas especies de levaduras Van Der Walt, <sup>(26)</sup> después de un período de 2-3 días de incubación a 34-37° C el examen microscópico permite observar el tamaño, la forma de las células y su modo de reproducción vegetativa, importantes en la diferenciación de los géneros.

- **Crecimiento en medio sólido** Para el estudio del aspecto macroscópico de las colonias, Van Der Walt <sup>(44)</sup> recomienda la siembra de la levadura en agar-malta o en medio conteniendo agar, peptona, extracto de levadura y glucosa, la descripción de las colonias es efectuada inicialmente después de 2-3 días y al final de 4 semanas de incubación a 34-37°C.

### Etiopatogenia y aspectos clínicos de las candidiasis superficiales cutaneas y cutaneo-mucosas

Los hongos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, siendo que las levaduras, en especial las del género *Candida*, son las más frecuentes en el tubo digestivo de animales con dieta rica en carbohidratos.

En la literatura está registrada la presencia de la levadura *Candida*, incluyendo la *Candida albicans* de acción patogénica más evidente en la piel y mucosas de individuos sanos.

Así mismo, este agente oportunista ha sido aislado de la cavidad bucal, heces, secreción vaginal, sarro y orina. En áreas expuestas de la piel, su aislamiento se da con menor frecuencia.

En pacientes internados, no portadores de candidiasis, Murillo De Linares & Marin<sup>(38)</sup> aislaron levaduras del género *Candida* de los cabellos y de la ropa de la cama.

En varios casos de enfermedades por diversas causas, o en la dependencia de factores locales, se eleva la incidencia de levaduras del género *Candida*. Así mismo en casos de endocrinopatías como hipoparatiroidismo, hipoadrenalismo y en los diabéticos existe mayor predisposición a las candidiasis, dificultando muchas veces el tratamiento. Las causas predisponentes, en tales casos, sería el aumento de la glicemia y eventual deficiencia inmunitaria.

En cuanto a este factor, constituye uno de los responsables por la infección en neoplasias malignas y hemopatías graves, como la leucemia aguda, la agranulocitosis y aplasia medular medicamentosa. En pacientes desnutridos, en ancianos debilitados y en prematuros, se verifica, igualmente, mayor incidencia de candidiasis, en sus diversas formas clínicas, durante el embarazo, principalmente en su último trimestre, debido a un aumento del glucógeno en las células vaginales, se eleva también en la incidencia de la vulvo-vaginitis blastomicética y también por el uso prolongado de algunos agentes terapéuticos predispone al apareamiento de las candidiasis superficiales o profundas.

Entre ellas los más comunes son los corticoides, por la acción inmunodepresora, los antibióticos de espectro prolongado, los medicamentos antiblasticas y los anticonceptivos. Smits & col<sup>(22)</sup> observaron, a través del cultivo de raspado bucal y perianal, aumento significativo, en ambos lugares, de *C. albicans* después de administración de penicilina parenteral y tetraciclinas. Datos semejantes fueron aceptados por varios otros autores. Los anticonceptivos, según Johnson<sup>(8)</sup>, pueden aumentar la incidencia de la candidiasis vulvo-vaginal.

Con relación a los factores locales, uno de los principales es la humedad. Así mismo, trabajadores en bares y lavanderías, entrando permanentemente en contacto con agua, muchas veces contaminada, y jabones, posibilitan la colonización del hongo, principalmente en surcos o pliegues cutáneos donde las levaduras encuentran mejores condiciones para su crecimiento.

La maceración de la piel, por factores mecánicos o químicos, también favorece el crecimiento de la levadura, sobre la forma filamentosa.

En las candidiasis cutáneas y cutáneo-mucosas superficiales, indicamos que la levadura más frecuente en tales procesos es la *Candida albicans*, y otras especies pueden ser aisladas, incluyendo levaduras pertenecientes al género *Candida* es por lo cual la expresión de micosis cutánea, como un problema más importante.

Considerándose el género *Candida*, con sus diversas especies, ya caracterizadas anteriormente, cuando se examina algún caso sospechoso de candidiasis cutánea o cutáneo-mucosa superficial, es muy difícil conocer la procedencia del hongo aislado de las lesiones. La anamnesia y el examen clínico cuidadoso ayudan muchas veces, para esclarecer los casos. La presencia de levaduras del género *Candida* en el organismo del humano, como agente oportunista, debe ser siempre tomada en consideración, bien como la exclusión de los factores predisponentes, anteriormente citados, tanto los sistémicos como los locales. La infección por *Candida* en la piel y mucosa constituye, todavía motivo para varias investigaciones, principalmente cuanto a la forma de penetración del hongo.

En cuanto a la forma de penetración, realiza a través de los blastosporos, también por el pseudomicelio, este con mayor virulencia.

Varios trabajos sugieren que la forma de infección se debe al pseudomicelio, que predomina en las formas iniciales de la adolescencia, sobre los blastosporos. A través de la microscopía electrónica, Murillo De Linares & Marin<sup>(38)</sup> demostraron la presencia de pseudomicelio entre las células epiteliales. Describieron, también, aberturas en la membrana celular por donde penetraría el micelio filamentoso, con la desaparición de los tonofilamentos. Este último caso fue refutado posteriormente en 1981, por los mismos autores.

En el estudio de las candidiasis, candidiasis superficiales, cutáneas y cutáneo-mucosas, deben ser analizadas, conforme ya referimos, las condiciones sistémicas y locales, incluyendo hábitos de higiene, uso de baños permanentes y de paños húmedos.

El cigarrillo y el alcohol crean condiciones para la colonización de *Candida albicans* en la mucosa bucal.

En las candidiasis superficiales, la “agresividad”, o mayor patogenicidad de la levadura, está, como vimos, condicionada a factores externos e internos. Entre los primeros, incluyéndose la humedad y la maceración epitelial de la resultante, en los pliegues cutáneos del tegumento expuestas a inmersión o al contacto prolongado con líquidos, inclusive curativos y paños húmedos.

Esta es la razón por la cual las candidiasis cutáneas son frecuentes en axilas, interglúteas y entre los espacios de lesiones interdigitales de individuos cuya profesión exige la inmersión prolongada de las manos y pies en agua (amas de casa, lavanderas, coperas, soldados con calzados apretados etc).

Factores internos o endógenos son importantes, principalmente en las formas mucosas y sistémicas, prevaleciendo en la diabetes, favoreciendo, por ejemplo, las balanitis y vulvitis. El alcoholismo crónico, la antibiototerapia prolongada y el empleo de anovulatórios deben ser estudiados. Especificando los principales factores predisponentes de las candidiasis superficiales, podemos así mismo sistematizarlas:

- Candidiasis intertriginosa (Intertrigo blastomicético)
- Candidiasis cutánea generalizada
- Paroníquia y oníquia
- Candidiasis bucal
- Candidiasis vulvo-vaginal

- Candidiasis perianal de los baños y paños húmedos
- Balanitis
- Candididosis
- Otitis.

### **Candidiasis intertriginosa**

Las lesiones rojizas, de superficie húmeda, exudativa y descamativas, acompañadas de un olor característico, y de extensión variable, se localizan en los pliegues y superficies cutáneas: axilas, región umbilical, submamarias, interglútea, perianal y espacios interdigitales.

Algunas lesiones son acompañadas de prurito y, cuando se produce maceración intensa, se nota, entonces erosión superficial recubierta de exudado blanquecino. La formación de vesículas son casos raros.

En mujeres con mamas voluminosas, el pliegue es doloroso, principalmente cuando la exudación es intensa, llegando a formar fisuras,

Christensen <sup>(41)</sup> llamo la atención para casos de “tiña cruris”, con aislamiento a partir de las lesiones, de *Trichophyton rubrum* asociado a *Candida albicans*.

### **Candidiasis cutánea generalizada**

Se demostró que es rara, verificada eventualmente en pacientes desnutridos o inmunodeprimidos, nada se relaciona con la candidiasis mucocutánea crónica. Caracterizada por la presencia de placas eritematosas, exudativas con vesículas, pústulas y costras comprometiendo el tronco, la cara, los miembros y las mucosas oral y vaginal.

Sometiendo al examen micológico bien conducido podrá llevar al diagnóstico de tales lesiones.

### **Paroniquia y oníquia**

En estos cuadros la *Candida albicans* es más frecuente en paroniquia que en la oníquia, observándose muchas veces en las amas de casa, lavanderas y otras profesiones que tienen un contacto prolongado de las manos con agua y jabón. Los tejidos periungueales presentan, edemas, tumefacciones rojizas, dolorosos a la palpación.

El proceso es de evolución crónica a no ser que a este se asocien bacterias piógenas, en las oníquias por *Candida*, para que se asocien tales lesiones a la levadura, es necesario demostrar y aislar el hongo, repetidas veces, principalmente revelando el examen microscópico, formas filamentosas.

Varios autores consideran *C. albicans* como el agente primario de la paroniquia, por Ej. Taschdjian & col. <sup>(39)</sup> notaron, en la paroniquia crónica, la asociación frecuente con el *Staphylococcus pyogenes* (infección mixta), sugiriendo en estos casos, para el tratamiento, la asociación tópica de nistanina y gentamicina, sistémica de la eritromicina.

### **Candidiasis buca**

La estomatitis cremosa o “algodoncillo”, o glositis candidásica aguda y crónica, con maceración en las comisuras, son registrados en la práctica médica en niños desnutridos y prematuros o en adultos con diabetes y en portadores de arriboflavinosa.

En la llamada “lengua negra pilosa” y otras alteraciones de la lengua como “lengua geográfica”, podemos encontrar levaduras del género *Candida* en el material recogido de las lesiones, como gérmenes oportunistas, más aun la causa primaria de la misma es siempre la glositis por irritación tabaquica, con hipertrofia de las papilas del linguales y color negro de la misma, debido a la impregnación de la nicotina.

### **Candidiasis perianal**

En niños o adultos, después del uso prolongado de antibióticos, principalmente del grupo de las tetraciclinas, pueden ocurrir lesiones perianales, acompañadas de prurito y exudado, con exámenes positivos para levaduras.

La infección por *C. albicans* en la “dermatitis de pañales” exacerba el cuadro básico con eritema, edema y lesión pápulo-rosada (papulosis sífilóide pos-erosiva- de Jaquet). La necesidad de diagnóstico diferencial con sífilis congénita precoz. En la región de los pañales empeora las lesiones de soriasis y dermatitis seborreica por la infección con *C. albicans*, siendo en estos casos encontrados en el examen micológico, pseudomicelio, indicando actividad del proceso.

### **Balanitis**

Puede ocurrir como infección facultativamente venérea, en el prepucio aparece eritema y edema, en el surco bálano-prepucial, lesiones eritematosas o eritemato-erosivas, recubiertas o no por una capa blanquecina.

### **Candídides**

Son procesos alérgicos, secundarios a los focos activos aislados, no se demuestra el hongo en las lesiones, cuya morfología es variable, las lesiones pueden ser vesiculosas, eritemato-vesiculosas, pápulo-liquenóides y de tipo urticaria, pueden ser observadas, con localización variable.

Algunos dermatólogos se refieren, específicamente, a una “candidiasis alérgica palpebral” recidivante, las mismas con el tratamiento específico del foco primario, la prueba de la candidina de tipo tuberculínico, se presenta fuertemente positiva, debido a la elevada frecuencia de su positividad en individuos normales, el dermatólogo deberá interpretar con buen criterio sus resultados con el cuadro clínico, el tratamiento bien orientado del foco primario permitirá que desaparezca las lesiones secundarias, el alérgeno responsable por las candidiasis parece tratarse de un polisacárido nitrogenado, presente principalmente en la variante “S” de la *C. albicans*.

### **Otitis**

Las otitis por *Candida albicans*, son raras en la práctica médica



**Queratitis**

Las queratitis y úlceras de córnea producidas por esta levadura comienzan a preocupar a los oftalmólogos, contraindicándose el uso de colirios o pomadas de corticoides en el preoperatorio que facilitan la colonización de varios hongos, inclusive de la *Candida albicans*, en estas últimas dos décadas, las micosis oculares pasaron a ser registradas con mayor frecuencia, la córnea es una parte de la capa externa del globo ocular y, dado el interés del asunto, incluimos en este capítulo breves consideraciones sobre las queratitis por *Candida*, las cuales pueden evolucionar, de una simple ulceración a procesos de panofalmía.<sup>(42)</sup>

**Candidiasis sistémica profunda**

Son menos frecuentes, se asocian a factores predisponentes severos. Tiene mala respuesta al tratamiento y para que se produzca tiene que haber, por lo general, invasión sanguínea. Entre estas tenemos la candidiasis broncopulmonar, la endocarditis, la meningoencefalitis.

La septicemia ocurre en pacientes con inmunosupresión severa de la inmunidad humoral y celular. Un ejemplo de lo anterior es el SIDA, donde se pueden presentarse todas las formas descritas de las candidiasis, aunque las más frecuentes son: la oral esofágica, cutánea y genital.<sup>(6)</sup>

**Candidiasis mucocutánea crónica**

Se da la denominación de candidiasis mucocutánea crónica (CMCC) a los cuadros especiales de infección de la piel, uñas y mucosas, sobre todo las mucosas accesible, producidos por levaduras del género *Candida* y que presentan carácter crónico, recidivante y de rebeldía terapéutica, teniendo por base defectos inmunológicos, endocrinos y metabólicos, en la mayoría de las veces innatos. Por eso, el inicio nace siempre en la infancia y, debido a la persistencia de los defectos inmunológicos, endocrinos y metabólicos, son crónicos, responden mal al tratamiento y son resistentes.

Al respecto de la definición, no se excluye la posibilidad de lesiones viscerales y de otras estructuras profundas, ahora no parecen ser estos pacientes más propensos a tales manifestaciones, y tampoco al inicio de la infancia, cuando los defectos básicos citados podrían ser adquiridos, en vez de congénitos.

El comportamiento durante la terapéutica es otra característica de la CMCC. Los tratamientos convencionales son prácticamente inoperantes y los métodos más modernos, de mayor actividad, posibilitando la regresión de las lesiones, no alterando la base patogénica hacen regresivas al tratamiento,

**Aspectos generales de las candidiasis mucocutánea**

Antes de abordar la CMCC en especial, conviene recordar aspectos generales de la infección por *Candida* en el hombre, la candidiasis puede ocurrir sobre la forma aguda, sub-aguda o crónica, en la mayoría comprometiendo piel, uñas, mucosas, pronóstico benigno, raramente, son posibles localizaciones viscerales y de estructuras profundas.

En circunstancias especiales se torna sistémica, porque se han verificado últimamente, dada la interferencia de modernos procedimientos terapéuticos, quirúrgicos o médicos.

Levaduras del género *Candida* son habitualmente saprofitas. Según Taschdjian & col. <sup>(39)</sup> 25 a 50% de las personas normales son portadoras de estos hongos en la boca, intestinos y vagina. Linares & Marin <sup>(38)</sup> recientemente, confirmaron esos datos, encontrando 57 (54%) portadores entre 105 individuos, en orden decreciente, en la vagina, heces, boca, orina y piel.

*Candida albicans*, por ejemplo, es un agente oportunista, esperando tornarse patógena, modificaciones de su ambiente de vida saprofita, de orden bioquímico o aumentado por deficiencia de la resistencia inmunológica del individuo. Entre esos factores están la obesidad, humedad, calor, maceración, endocrinopatías, diabetes, embarazo, píldoras anticonceptivas, mala nutrición, deficiencia de vitaminas del complejo B, cirugías (inclusive cardíacas), diálisis peritoneal, procedimientos médicos, por ejemplo, cistoscopia, infusiones y cateterismo venosos o arteriales, acidosis, antibioticoterapia prolongada, anemias, deficiencia de zinc, deficiencia de hierro, deficiencia de transferrina, deficiencia de mieloperoxidasa; quimioterapia, corticoterapia, cáncer, linfomas, hemopatías, infecciones crónicas, enfermedades inmunodepresivas e inmunodeficiencias congénitas. Algunas de esos factores pueden actuar a través de la inmunodepresión, habiendo también la posibilidad de la asociación de más de una de ellas que juntamente van a facilitar la receptividad a la infección que surgirá, a veces, con complicaciones graves, la enfermedad es persistente agravando, el cuadro patológico y su pronóstico.

### **Cuadros clínicos generales de las candidiasis mucocutánea**

Son posibles manifestaciones clínicas, aisladas o asociadas, de la candidiasis: queilitis, estomatitis (en especial la estomatitis cremosa), leucoplasia oral por *Candida*, rinitis, faringitis, laringitis, esofagitis, gastroenteritis, colongitis, bronquitis, infecciones pulmonares, infecciones renales, cistitis, uretritis, bálano-prepucial, vulvovaginitis, infecciones del sistema nervioso central, meningitis, infecciones cardíacas incluyendo endocarditis, osteomielitis, lesiones hepáticas, lesiones esplénicas, septicemia y coagulación intravascular diseminada.

En la candidiasis intestinal aparece a veces “síndrome de la embriaguez”, caracterizada por la aparición de sensación de embriaguez, con fiebre, sudoración, tortura, astenia, palpitaciones, cerca de 20 minutos después de la ingesta de alimentos y dura aproximadamente 2 horas.

En la piel, la candidiasis se presenta como intertrigo, paroniquia, onicomycosis, onicolisis, foliculitis de la cara, eritema micótico infantil, erupciones diseminadas eritemato-escamosas o papulo-eritematosas, gomas, lesiones macronodulares purpúricas septicémicas o granulomas hiperqueratósicos ulcero-vegetantes

### **Características candidiasis mucocutánea crónica**

Esta forma de candidiasis, ya anteriormente definida, merece atención especial por sus aspectos peculiares, que la hacen importante y bien delimitada para su cuadro clínico. Las principales características de la CMCC son:

### **Lesiones tegumentares especialmente de la piel, de las uñas y de las mucosas accesibles, persistentes, recidivantes y respondiendo mal a la terapéutica**

De evolución crónica es cuando no es profunda y visceral, con pronóstico razonable, al respecto del des confort físico y social llevando a los pacientes, la CMCC presenta, constante y frecuentemente, lesiones tegumentares, que llaman desde luego atención á primera vista, sugiriendo el diagnóstico. Las manifestaciones tegumentares antes enumeradas pueden ser encontradas todas, o apenas algunas de ellas.

Son frecuentes las localizaciones orofaríngeas, tales como estomatitis difusa cremosa con aspecto de gránulos de leche coagulada o como si fuese una película húmeda, brillante, nacarada, continua o discontinua, prominente este aspecto en la lengua. La apariencia en general leucoplasiforme a veces es acentuada por la hiperqueratosis, recibiendo esta la clásica denominación de leucoplasia por candida.

Manifestaciones frecuentes son el intertrigo micótico por candida el cual es constante comprometiendo a las uñas tornándose irregulares, delgadas, friables, amarillentas, acompañadas de intensa paroniquia con entumecimiento de las extremidades de los dedos

Otras lesiones pueden localizarse en las mucosas orofaríngeas, como también: comprometiendo el tubo gastrointestinal, debiéndose no olvidar la esofagitis, manifestaciones bronco-pulmonares, bálano-prostatitis, vulvovaginitis, uretritis y cistitis, las lesiones cutáneas e inguinales pueden presentar infección dermatofítica, en particular por *Trichophyton*, y bacteriana asociada, la presencia de bacterias patogénicas en asociación con *Candida* ocurre también en las mucosas.

### **El comprometimiento profundo y visceral no es prominente**

Cuando hay compromiso visceral o de estructuras profundas, el cuadro clínico-patológico obviamente se agrava y con él, el pronóstico.

### **Inicio generalmente en la infancia**

En caso de invadir otro hábitat en especial, casi siempre depende de la constitución del paciente, el inicio de la CMCC es en la infancia en la mayor parte de las veces, después el carácter patológico y la evolución crónica depende básicamente en factores congénitos, ya relacionados, condicionando el transitar de los hongos del género *Candida*, de saprofitos a patógenos. Esos mismos, u otros factores condicionantes, pueden ser adquiridos en el transcurso de la vida, razón por la cual el inicio no es exclusivo en la infancia, comenzando la CMCC en joven o adulto.

### **Puede ser familiar**

Las condiciones congénitas que tornan el terreno favorable para CMCC pueden ser hereditarias, siendo así mismo posible su ocurrencia en miembros de la misma familia.

**Están presentes con elevada frecuencia, alteraciones metabólicas, endocrinopatías y deficiencia inmunológica**

Las alteraciones metabólicas, endocrinopatías y deficiencias inmunológicas que tornan el terreno propicio para CMCC, ya constantes de la lista de factores enunciados, son congénitas, familiares o adquiridas y casi siempre se asocian a un mismo paciente.

Muchos casos de CMCC se relacionan con las condiciones patológicas metabólicas y endocrinas, figuran: hipoparatiroidismo, hipotiroidismo, insuficiencia tiroidea, insuficiencia suprarrenal, hipogonadismo, diabetes, enfermedad celíaca, anemia perniciosa, anemia hemolítica, deficiencia de hierro, deficiencia de zinc, deficiencia de transferrina, deficiencia de mieloperoxidasa y hepatopatías crónicas.

Las respuestas dependientes de la inmunidad humoral no se hallan alteradas, siendo normal la producción de anticuerpos tales como precipitinas y aglutininas. El papel de los anticuerpos no es claro en la candidiasis.

**Candidiasis vulvovaginal**

La vulvo-vaginitis blastomicética, determinada generalmente por levaduras del género *Candida*, principalmente la *Candida albicans*, es infección frecuente, predominando durante el período reproductor de la mujer.

Inyección sistémica han sido descritas, pudiendo el hongo atacar, durante el embarazo, al producto de la concepción.

En orden de frecuencia, la candidiasis ocupa el segundo lugar dentro de las vulvo-vaginitis, después la colpitis por *Trichomonas*.

**Incidencia de la candidiasis vulvovaginal**

En la mujer adulta, con actividad sexual, la candidiasis vulvo-vaginal es frecuente entre el 16 a 20% de los casos examinados. La incidencia es menor en la infancia, pubertad y climatérico. Es más frecuente en diabéticas y en las que usan píldoras anticonceptivas. Su importancia reside, también, en ser referida como la infección más frecuente en las portadoras de displasias cervicales, lesiones precursoras de carcinoma del cuello del útero

La *Candida albicans* ha sido aislada de la vagina en estudios en un 35% de la población, observándose mayor incidencia durante la gravidez, la vulvo-vaginitis en la mujer grávida ocurre en 30% de los casos y en aproximadamente 15% dichas mujeres la infección es mixta con tricomoniasis.

**Etiopatogenia de la candidiasis vulvovaginal**

La candidiasis afecta normalmente las zonas húmedas y cálidas de la piel y las mucosas, como las axilas, la boca, uñas, el glande y la vagina; las erupciones cutáneas asociadas con el uso de pañales suelen ser de este tipo. Representa un 25% de las micosis cutáneas.

La candidiasis es la más frecuente causa de vaginitis; se estima que tres de cada cuatro mujeres experimentan al menos un episodio de candidiasis durante su vida. *Candida albicans* es parte de la flora normal de la vagina; las condiciones patógenas pueden producirse por el uso de duchas que eliminan parte de los microorganismos que lo controlan (como los lacto bacilos).

Las probabilidades de contraer candidiasis aumentan en pacientes obesos y diabéticos; el consumo de antibióticos y anticonceptivos también incrementa el riesgo, así como alteraciones hormonales debidas al embarazo.

En pacientes con deficiencia inmunológica, neoplasias, diabetes, lupus eritematoso, y linfomas, la infección puede extenderse, con consecuencias graves.

Los hongos están siempre presentes en el cuerpo humano, pero la presencia natural de otros microorganismos previene su crecimiento descontrolado. Sin embargo, perturbaciones externas, como el uso de ciertos detergentes, variaciones del pH, o internas, como cambios hormonales o fisiológicos, pueden causar alteraciones de la biota y resultar en un crecimiento anormal de los hongos.

Embarazo, uso de anticonceptivos, sexo vaginal después de sexo anal, uso de lubricantes que contienen glicerina, son factores relacionados con infección por hongos. La diabetes y el uso de antibióticos también parecen tener incidencia en la micosis. Además, la candida puede transmitirse sexualmente. Los tratamientos de reemplazo hormonal y de infertilidad podrían también ser factores desencadenantes.

En cultivos del contenido vaginal revelan candidiasis asintomática en 40% de los casos, muestra datos obtenidos por diversos autores con referencia a la positividad de hongos levaduriformes en la secreción vaginal de mujeres con o sin leucorrea. Gresham & Wittle<sup>(33)</sup> refiere que el 25% de las mujeres, *Candida albicans* es aislada de la secreción vaginal como saprofitas, la enfermedad parece depender de alteraciones locales y sistémicas del hospedero.

La infección desarrolla cuando el pH vaginal disminuye y aumenta la cantidad de glucógeno, la *Candida albicans* es una levadura Gram-positiva, que se desenvuelve mejor en pH ácido, entre 3,9 y 5,0.

### Factores predisponentes

- relación hospedero-hongo.- Se sospecha que factores inmunológicos y no inmunológicos favorecen al crecimiento de la *Candida albicans*.
- El embarazo.- el nivel elevado de estrógeno, aumenta la cantidad de glucógeno en la mucosa vaginal, con mayor acidez, facilitando el crecimiento de la levadura.
- La Diabetes.- muy frecuente la vulvo-vaginitis en las diabéticas, relacionada con el aumento del glucógeno vaginal, señala que la incidencia de la vulvo-vaginitis micótica no difiere en gestantes y no gestantes.
- Esteroides suprarrenales.- La administración de glucocorticoides suprarrenales favorece el desarrollo de la candidiasis sistémica, la cortisona, bien como el estradiol, estimula el desarrollo de la *Candida albicans* "In Vitro".
- Antibióticos.- Es sabido que la antibioticoterapia prolongada favorece la proliferación de la candidiasis sistémica y localizada, el antibiótico, reacciona sobre microorganismos sensibles, facilita el desenvolvimiento de los resistentes, inclusive de la *Candida albicans*, pudiendo aparecer después de un tratamiento prolongado con cloranfenicol y tetraciclinas, vulvitis por *Candida*.

- Ha sido observado en casos obstétricos y ginecológicos, después de la administración de soluciones hipertónicas concentradas de aminoácidos y monosacáridos.
- Anticonceptivos.- Murillo De Linares & Marin <sup>(38)</sup> verificaron que la incidencia de vulvo-vaginitis por Candida es mayor en las mujeres que utilizan anticonceptivos por vía oral por, más de un año, la fisiopatología de la infección por la *Cándida albicans* en tales condiciones no está completamente esclarecida.

### **Sintomatología de la candidiasis vulvovaginal**

En la fase aguda surge ardor y prurito vulvar, con flujo vaginal de intensidad variable. La irritación local, supuestamente a consecuencia de una micotoxina no definida, determina disuria a consecuencia del pasaje de la orina en el área irritada, el flujo es de aspecto de leche coagulada y depositado en la ropa interior y seco, tiene aspecto arenoso, la vagina puede presentarse con edema y la mucosa de los labios menores, además de discreto eritema, a veces con pequeñas vesículas. En la fase crónica predominan flujo, prurito y disuria. Con el tiempo puede surgir micro ulceraciones.

### **Diagnóstico clínico**

Con el espejo, el especialista observa características del flujo, sobre la forma de placas blanquecinas adherentes a la pared vaginal y al cuello del útero, como leche coagulada y un olor característico. En general los Síntomas se exacerban en la post-menstruación importante la confirmación laboratorial, en 10% de los casos existe infección concomitante, por *Trichomonas*.

### **Candidiasis diseminada**

En pocos casos descritos en ginecología y obstetricia, la candidiasis diseminada fue de origen iatrogénico por el uso prolongado de antibiototerapia. El hongo se desenvuelve con frecuencia en la luz de los túbulos renales, siendo los riñones los órganos más frecuentemente afectados.

### **Infección congénita**

Solamente en 1968 fue reconocida la candidiasis adquirida "In útero", manifestándose en ocasión del nacimiento, son sugeridas tres hipótesis para la explicación de estos casos:

Invasión directa, por la levadura, a partir de la vagina para el líquido amniótico después de la ruptura prematura de las membranas.

A través de membranas intactas. Esta última hipótesis fue verificada en casos, con invasión y muerte del embrión.

Dalmau <sup>(40)</sup> describe las lesiones resultantes de esa infección, demostrando micelio en alvéolos pulmonares y en la luz intestinal, en los prematuros es común en casos de infección intra-uterina.

### **Candidiasis neonatal**

Es un problema pediátrico común. La Candidiasis oral en recién-nacidos cuya incidencia es de 5 a 19%, posiblemente es adquirida durante el pasaje por el canal del parto y por la deglución de partículas del contenido vaginal.

Wickerham <sup>(29)</sup> constato que el 50% de los nacidos vivos de madres con vaginitis micótica posteriormente presentaban candidiasis, también se observó que en un 61,5% de las madres de niños con “algodoncillo” las madres estaban infectadas con *Candida albicans* vaginal en el pre-parto y 30% manifestaran síntomas sugestivos de candidiasis durante el embarazo.

### Diagnóstico de laboratorio

La toma de muestra de secreción vaginal en púberes debe ser hecha con asa de platina a través, del orificio del himen o con un especulo propio para vírgenes. En las demás, después de la colocación del especulo, que debe ser esterilizado y no lubricado, se recolecta la muestra directamente de las placas blanquecinas o del fondo-del-saco vaginal con asa de platina, espátula ginecológica o pipeta, el material debe ser impregnado en suero fisiológico y colocado entre cubre y portaobjetos para el examen microscópico.

Los filamentos son identificados con facilidad, el examen en fresco puede ser facilitado por la adición de azul de metileno, azul de toluidina o hidróxido de potasio a 10 o 20%, el examen del portaobjetos coloreado por la tinción de Gram., revela filamentos o blastosporos Gram-positivos.

No se recomienda el método de Papanicolaou debido a falsos resultados negativos, se cultiva en agar Sabouraud u otros medios para levaduras. El lavado vaginal debe ser evitado, antes de la toma de muestra del material, para los casos de vulvitis, el material debe ser raspado de las áreas irritadas.

### Tratamiento

En adultas, las aplicaciones vaginales son realizadas con el especulo, también en días alternados, durante dos semanas, los fungicidas, en cremas u óvulos (100.000 U), puede ser aplicada dos veces al día, durante 10 días. Externamente, en la región vulvar es importante hacer la aplicación de la crema. En vírgenes se utiliza aplacadores propios, los antimicóticos pueden ser complementados por vía oral (comprimidos de 250.000 U), 4 veces al día.

Recientemente va siendo utilizado el miconazol al 2% en crema. Debe ser aplicado diariamente, en la noche, durante 2 a 3 semanas.

Murillo De Linares & Marin <sup>(32)</sup> estudiando en 535 mujeres grávidas, obtuvieron los mejores resultados con nitrato de miconazol al 2%, el clotrimazol es también de gran valor, proporcionando resultados satisfactorios, recientemente han sido demostrada buena acción fungicida. El tratamiento, en algunos casos, debe ser complementado con la aplicación de cortisona, para aliviar el prurito y la irritación vulvar. De la misma forma, lavados vaginales con bicarbonato de sodio al 1%, inicialmente alivian los síntomas.

El criterio de cura se basa con tres cultivos sucesivamente negativos, con dos semanas de intervalo, iniciándose una semana después del término del tratamiento. Nuevas infecciones pueden ocurrir, en la dependencia del grado de higiene vaginal, vida sexual y otros factores.

**Marco operativo**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la nueva infraestructura del Instituto Experimental de Biología Dr. Luis Adám Briancon de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.M.R.P.S.F.X.CH. Específicamente en los Laboratorios de Microbiología y Parasitología Clínica.

La población considerada en el presente estudio abarcó a las gestantes que concurrieron al hospital Gineco-obstétrico en el mes de Abril y Mayo del año 2011.

De esta población se seleccionó como muestra a 100 gestantes, de los 3 consultorios activos a consultas, tanto ginecológicas como obstétricas, que el hospital ofrece a todas las mujeres que acuden.

**Métodos de investigación****Método Teórico**

Consistente en la revisión de bibliografía relevante para el estudio. Este método se aplicó para obtener información teórica requerida para el desarrollo del trabajo de investigación.

**Método Analítico y Sintético**

Por las características de este método, se utilizó, principalmente, en la construcción del marco contextual, y establecer la situación real y sistematizar los datos obtenidos en el trabajo de campo.

**Inducción y deducción**

El valor de éste método en la investigación está dado porque permitió contribuir en la fundamentación teórica de la investigación, además de establecer generalizaciones sobre la base del estudio de fenómenos singulares, por lo que este método se aplicó, principalmente, en el trabajo de campo que se realizó.

**Estadística**

Como respaldo científico a los resultados obtenidos en la investigación que valida el estudio realizado.

**Recolección de información****Fuentes de recolección**

Luego de determinados los métodos que se emplearon, se establecieron las técnicas para la recolección de información necesaria para realizar el trabajo de investigación.

Las técnicas utilizadas fueron:

**Revisión bibliográfica**

Se la realizó en base a la recolección de información de libros, revistas, publicaciones e Internet, claves para determinar el marco contextual, marco teórico y operativo del presente trabajo de investigación

La otra fuente de información se basó, netamente, por las muestras biológicas recolectadas de manera directa de las pacientes que acudieron al Hospital Gineco- Obstétrico



**Instrumentos de recolección**

Toma de muestra de exudados vaginales

**Muestra****Criterios de inclusión**

En el estudio se tomó en cuenta a las mujeres embarazadas que asistieron a su control prenatal

**Criterios de exclusión**

1. Mujeres que asistieron por consultas ginecológicas.
2. Mujeres que volvían por re-consulta.
3. Mujeres que no quisieron hacerse la prueba.

**Métodos de recolección****Recolección de la muestra**

El diagnóstico de la micosis comenzó con las descripciones molestas e incómodas que la paciente refirió ante la consulta con el doctor, en vista a la sospecha clínica el doctor en sala recurrió a la toma de muestra de exudado con aumento de flujo vaginal, con previa aceptación de la paciente, con ayuda de un hisopo estéril la muestra es tomada del fondo de saco y/o endocervix.

Posteriormente con el mismo hisopo se realizó la siembra en el medio con agar Sabouraud con Cloranfenicol, continuando se realizó el frotis en el portaobjetos fijando la placa al calor de un mechero. Se enumeró tanto placas como tubos.

Al final de la jornada las muestras fueron transportadas al Instituto Experimental de Biología Dr. Luis Adám Briancon de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Los tubos fueron colocados a incubación de 37°C con la fecha correspondiente al día que fueron tomadas, para así tener un mejor control de tiempo de incubación y las placas eran acumuladas para ser posteriormente teñidas.

**Identificación de levaduras del género candida**

Examen directo.- Es el método más simple y más rápido para establecer un diagnóstico presuntivo de micosis, ya que no necesita de incubación. Las placas fueron observadas con una previa Tinción de Gram.

**Fundamento de la tinción de Gram**

Se basa en la diversa coloración que toman cada uno de los grupos de bacterias puesto que el grupo de bacterias Gram (+) se tiñen azul y el otro grupo que son las Gram (-) se tiñen de color rosa. Las

Levaduras de los hongos de candida son Gram Positivas. Procedimiento de la tinción de Gram (Técnica convencional)

- Cubrir el portaobjeto (frotis) con el primer colorante básico como es la violeta de genciana y se espera 1 min.
- Se enjuaga con agua corriente con la ayuda de una pizeta.
- A continuación, se vierte en el portaobjetos un mordiente como es el lugol que actuara como fijante del anterior colorante.

- Una vez transcurrido 1 min. Se enjuaga con agua corriente.
- Luego se vierte sobre el portaobjetos acetona y/o alcohol de 96° y se deja por 20 segundos, después se enjuaga con agua.
- Finalmente se vierte el segundo colorante o colorante de contraste que es la fucsina básica y se espera entre 1 y 2 min y se lava con agua corriente, hasta quitar el exceso y se deja secar.

Se lleva a microscopio. La observación se hizo con aceite de inmersión a 100x.

Las formas observadas fueron de levaduras, presencia de pseudomicelio en los casos positivos y obviamente la ausencia, son los casos negativos.

### **Cultivo**

Para el aislamiento primario de las muestras se utilizó medios de cultivo en Agar Sabouraud clásico, con la incorporación de Cloranfenicol, este es muy adecuado para el crecimiento de casi todos los hongos filamentosos y levaduras al mismo tiempo que inhiben a una gran mayoría de bacterias. Una vez obtenido el agar se vertió en tubo o en placa, en este caso se utilizó tubos de ensayo.

### **Fundamento del cultivo en Agar Sabouraud con Cloranfenicol**

Se basa en la alta concentración de dextrosa y la acidez del pH que hacen de éste un medio selectivo para hongos. Con la adición de Cloranfenicol.

Este medio es apto para el desarrollo de hongos, cumpliendo así su acción antibacteriana el Cloranfenicol, puesto que en este tipo de muestras es frecuente la presencia de bacterias.

### **Procedimiento**

Agar Sabouraud con Cloranfenicol SAB+C

Dextrosa	40g.
Peptona	10g.
Agar	15g.
Cloranfenicol	0.20g.
Agua Destilada	1 litro.

Disolvimos el Agar en un tanto del agua destilada caliente después de unos minutos de disolución se agregó la Dextrosa y se agito, así mismo, se colocó la peptona y finalmente el cloranfenicol y se enrazo al volumen final 1 litro. Se vertió en tubos de ensayo y se llevó a la autoclave.

### **Siembra de la muestra**

Como ya se mencionó anteriormente, dentro del consultorio se realizó la toma de muestra con el hisopo estéril, posteriormente se realizó la siembra del exudado vaginal en los tubos con Agar SAB+C ayudados por el mechero de alcohol se logró una adecuada siembra así mismo se cumplió todos los pasos de bioseguridad para el personal que colaboró, Dr. en Ginecología, Lic. En Enfermería, Internista de Medicina y la postulante.

Las muestras fueron transportadas al Instituto de Experimentación e incubadas en las estufas de 37°C del Laboratorio de Microbiología por un lapso de 48 a 72Hrs.

La positividad de presencia de Levadura Candida fue correlativa con las lecturas de los frotis, puesto que cada paciente tenía un tubo cultivado y un portaobjetos con frotis.

Entonces con un examen macroscópico fueron descartados aquellos tubos que a simple vista mostraban un cultivo pulcro, además de confirmar la negatividad en el examen directo.

Siendo positivos aquellos tubos de ensayo con cultivos, que a simple vista mostraban grumos o placas blancas o blanco-amarillentas, colonias cremosas brillantes y redondeadas.

### **La resiembra**

La resiembra se realizó a partir de aquellos tubos positivos, caracterizados por la presencia de grumos o placas blancas o blanco-amarillentas, colonias cremosas brillantes y redondeadas

### **Prueba del Tubo Germinativo**

Fundamento.-La formación de Tubo Germinativo se basa en la búsqueda del crecimiento de filamentos finos o tubos germinativos que crece en una célula.

Esta prueba es fidedigna, confiable y específica para la identificación de Candida albicans, la misma es muy utilizada en laboratorio pues es muy rápida.

### **Procedimiento**

Para permitir la precisión en esta prueba se utilizó un sistema muy básico, que consiste en la recolección de sueros humanos remanentes de aquellos que han sido empleados en los exámenes de rutina y que no presentaron ictericia, hemolisis ni lipemia, conocido también como Pool de Sueros.

- Se dispuso 20 tubos de ensayo sobre una gradilla de madera, enumerados correspondientemente a las 20 cepas dispuestas a ser identificadas.
- Con ayuda de una pipeta en cada uno de ellos, se colocó 1ml del Pool de Sueros.
- Se esterilizó el asa de platino a la flama del mechero Bunsen hasta que esta quedó al rojo vivo entonces se procedió a recoger una pequeña cantidad de la primera siembra de 1 a 2 colonias, cultivadas previamente en Agar SAB+C 3 días previos a esta prueba, posteriormente se inoculo en el tubo de ensayo N° 1.
- Se procedió a esterilizar el asa, a cerrar el tubo así también la caja de Petri que le correspondía.
- Se realizó una suspensión en el suero con la colonia N° 1 y así sucesivamente hasta terminar con las 20 muestras. Se llevó a incubación por 90 minutos a 37°C.
- Transcurrido el tiempo, con 2 gotas de la suspensión se llevó a observación microscópica, con objetivo de 10x y 40x.
- Se encontró presencia de tubos germinativos, es decir células con apéndices en uno de los extremos.

- La observación microscópica se realizó en 2 ocasiones más, con lapsos de 60 minutos.

Las lecturas fueron positivas con la formación de tubo germinativo en todas las muestras, a los 60 minutos.

### Formación de Clamidosporas

Fundamento.- Al ser los Clamidosporas esporas asexuadas con pared espesa, comúnmente rica en material lipídico y glucógeno la Prueba se basa principalmente en el medio de cultivo con Agar Harina de Maíz junto al Tween 80 que disminuye la tensión superficial en el medio, favoreciendo la formación de la Clamidosporas.

Procedimiento (Método de rivalier y Sendel)

Agar Harina de Maíz.....	40g.
Agar Sabouraud.....	20g.
Tween 80(şorbitana polioxietileno monoleato).....	10 ml.
Agua destilada .....	1 lt.

- Se disolvió el Agar harina de maíz en un tanto de agua caliente, después de unos minutos se añadió el Agar Sabouraud y finalmente el Tween 80, se enrazo con agua a un volumen de un litro.
- Se vertió 10ml en cada uno de los tubos de ensayo y se llevó a autoclave.
- Posteriormente se realizó los microcultivos en los portaobjetos, distribuyendo un tubo de ensayo para cada portaobjetos hasta formar una película sobre el mismo.

- Después de la solidificación del medio, con ayuda de un asa esterilizada a la llama, se sembró finas estrías, recubriendo el lugar con cubreobjetos una a una, en conjunto las placas se introdujeron a una caja de vidrio proporcionando humedad a la misma con torundas empapadas en agua destilada, manteniendo así la humedad necesaria para el crecimiento de la levadura. Se cerró la caja de vidrio con papel madera.
- La incubación se efectuó a 37°C durante 3 días, procediéndose después al examen microscópico para observar la morfología de la levadura.

Las lecturas son: la producción de una Clamidospora en posición terminal es correspondiente a la especie *Candida albicans* y la formación de dos Clamidosporas en posición terminal en el micelio es correspondiente a la *Candida stellatoidea* como se muestra en la figura Número 1 (pág. 22)

### Zimograma

Fundamento.-El Zimograma se basa en el Método de Van Der Walt, entonces la fermentación de Carbohidratos por las levaduras, se debe evidenciar la formación de Dióxido de Carbono detectadas a través de los Tubos de Durham.

Procedimiento del medio para la prueba de Asimilación de Carbono

Peptona.....	2.5g.
Extracto de Levadura.....	2.5g.
Agua Destilada.....	1 lt.

- Se disolvió la Peptona en un tanto de agua caliente, después de unos minutos se añadió el Extracto de Levadura, enrazando el agua a un volumen de un litro.
- Con ayuda de una pipeta se colocó 5ml de la Solución a 80 tubos de ensayo.
- Mientras tanto se realizó las diluciones de los azúcares al 2% en agua destilada, en el siguiente orden: Glucosa (GLU); Maltosa (MAL); Sacarosa (SAC) y por ultimo Lactosa (LaC).
- Dispuestos los tubos en columnas de 4, a la primera fila se vertió 1ml de la disolución de Glucosa, a la segunda fila de Maltosa, a la tercera y cuarta fila Se dispuso la disolución de Sacarosa y Lactosa respectivamente, se agito levemente para mezclar los 5ml del medio con el ml de cada disolución y para no mojar los tapones de algodón que cada uno llevaba.
- En base a la abreviatura utilizada anteriormente, se etiqueto todos los tubos con el azúcar que le correspondía para evitar confusión así como para facilitar una posterior lectura de resultados.
- Después de ser auto-clavados los 80 tubos de ensayo, con ayuda del asa esterilizada, se colocó el inóculo respectivo, a los 4 tubos de la primera columna se inoculó la muestra número uno, a la 2da columna el inóculo número dos y así sucesivamente hasta terminar las 20 columnas, vale redundar, las 20 muestras positivas.

- Finalmente, con ayuda de una pinza esterilizada para introducir boca abajo los Tubos de Durhan, de forma cuidadosa y ordenada, tapados uno por uno todos los tubos se llevó a incubación de 37°C, el control del tiempo se realizó a diario y finalmente la lectura se la hizo al cabo de los 8 días.

Las lecturas son: Se consideró los tubos positivos aquellos que a simple vista muestran la presencia del gas de dióxido de carbono CO<sub>2</sub>, como una burbuja dentro del tubo de Durhan.

Tanto en la *Candida Albicans* como en la *Candida stellatoidea* se observó la fermentación del azúcar con un burbuja de gas en la Glucosa como en la Maltosa y una ausencia de gas en la Sacarosa como en la Lactosa.

### Auxonograma

Fundamento.-Se basa en el método de Beijerinck, el cual muestra la asimilación de fuentes de carbono cuando se utiliza en el medio solido libre de cualquier fuente de carbono. En el caso de demostrar la habilidad de la levadura en utilizar el Nitrato como única fuente de Nitrógeno, se varía apenas la composición del medio basal (libre de Nitrógeno).

En el presente trabajo se realizó el siguiente:

Procedimiento del medio para la prueba de Asimilación de Carbono

Sulfato de Amonio (NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Fosfato de Potasio monobásico KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

Sulfato de Magnesio Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>

Agar

Agua Destilada

- En un matraz Erlen Meyer se disolvió el Agar en un tanto del agua destilada caliente después de unos minutos de disolución se agregó el Sulfato de Amonio y se agito, así mismo se colocó el Fosfato de Potasio monobásico y finalmente el Sulfato de Magnesio y se enrazo al volumen final 1 litro. Para mejor disolución se llevó a calor de una hornilla eléctrica, agitando suavemente la mezcla.
  - Se vertió 5 ml del medio a 20 tubos de ensayo, una vez tapados los mismos se los llevo a autoclave.
  - Paralelamente se dispuso de 20 cajas de Petri descartables y se enumeró cada caja del 1 al 5 correspondiendo al número 1 la Glucosa, al número 2 la Galactosa, al 3 con Lactosa, al número 4 con Maltosa y finalmente al 5 con Sacarosa.
- Para evitar confusiones así mismo para posteriormente facilitar la lectura se etiqueto los números con las siguientes siglas GLU; GAL; LaC; MAL y SAC, correspondientes Al orden de los azucares de la Tabla identificación de levaduras del genero candida.
- La disposición de los números se basó en forma pentagonal, guiados mediante la disposición que se utiliza en el antibiograma.

- En este paso se consideró de sobre manera, la importancia de la temperatura del medio de cultivo para la prueba de asimilación de carbono, puesto que se requería que el medio no esté “ni tan caliente para matar la cepa al momento de la inoculación; ni tan frio que se solidifique y no se pueda homogenizar la muestra en el medio ni se pueda verter a la caja de Petri. Los tubos fueron llevados a Baño María.
- Entonces con el asa estéril, se recogió entre 2 a 3 colonias de la cepa madre, de la muestra número uno y se la deposito en el tubo de ensayo número uno, se agito suavemente para homogenizar la cepa en el medio, posteriormente se vertió la suspensión a la caja de Petri descartable marcada con el número uno en la tapa y se dejó sobre el mesón, semi-tapada, para que el calor no empañe la tapa y el agua del vapor no influya en el ensayo posteriormente.
- Una vez solidificado los medios se colocó caja por caja, con espátulas descartables e individuales las siguientes fuentes de carbono, 1.Glucosa, 2.Galactosa, 3.Lactosa, 4.Maltosa y 5.Sacarosa. Completas las 20 muestras con los 5 azucares se llevó a incubación a 37°C por el lapso de 72Hrs.

Las lecturas son: En los casos positivos se observó la formación de un halo de crecimiento alrededor del carbohidrato asimilado y en los casos negativos no se vio la formación del halo.

En cuanto a las muestras biológicas propias de la candida albicans se observó asimilación de los carbohidratos en la Glucosa, Galactosa, Maltosa y Sacarosa exceptuando la Lactosa. Y en las muestras típicas de la candida stellatoidea se observó asimilación en los azúcares tales como la Glucosa, Galactosa y Maltosa exceptuando la Lactosa y Sacarosa.

### **Procesamiento de la información**

#### **Revisión**

- Se realizó la tabulación de datos de las pacientes, en base a las muestras biológicas procesadas.
- Se clasificó al agente causal del cuadro micológico.

#### **Clasificación**

La clasificación se realizó en escalas cualitativas y cuantitativas, de acuerdo a lo que nos interesó determinar en éste estudio.

#### **Selección de Datos**

Se tomó en cuenta como datos aceptables, aquellos arrojados por pruebas que respondieron a condiciones impuestas.

#### **Recuento**

Los datos fueron sometidos a un recuento de los resultados obtenidos, los mismos fueron cuantificados por especies.

#### **Presentación**

La presentación de los resultados se realizó mediante cuadros y gráficas de acuerdo a las variables elegidas en el presente estudio.

### **Análisis de Información**

De acuerdo a las variables con las que contamos, usamos las siguientes medidas para la verificación de resultados.

### **Determinación de la muestra**

#### **Universo**

El universo de la investigación estuvo constituido por pacientes que acudieron al hospital gineco-obstétrico “Dr. Jaime Sánchez P.” con cuadros clínicos sospechosos de micosis vulvo-vaginal.

#### **Muestra**

La muestra de estudio, estuvo constituida por exudados vaginales

#### **Unidad de investigación**

La unidad de la investigación, fue la paciente con vulvo-vaginitis.

#### **Variables**

Especie  
Género  
Hongo

#### **Resultados**

La gestante es susceptible tanto a la colonización como a la infección vaginal por levaduras Candida.

De las 100 gestantes en estudio, que acudieron al Hospital Gineco-Obstetrico en el periodo comprendido entre Abril y Mayo del año 2011, se observó que los casos positivos con candidiasis vulvovaginal, presentaron presencia de la especie Candida albicans.

### - Resultados preliminares

Una vez concluida la recolección de las muestras biológicas, se tabuló los resultados y se pudo observar lo siguiente:

Según las muestras, del total de gestantes, el 20 por ciento se encontró con infección de candidiasis vulvo-vaginal y el 80 por ciento no cursaba por ninguna infección de candidiasis.

Por otro lado, el 20% del total de gestantes padecieron Candidiasis, mediante la observación directa de levadura del género candida, mientras que el 80% son casos negativos, al no observarse ningún tipo de levadura.

### - Resultados finales específicos

Luego de la aplicación de las pruebas preliminares se recurrió a la aplicación de pruebas específicas para la identificación de las especies del género candida.

De los casos positivos para la búsqueda de Tubos Germinativos para hongos del género Candida se pudo determinar que el 18% de las pacientes presentan una candidiasis vulvo-vaginal por la especie Candida albicans y el 2% por la especie Candida Stellatoidea.

En cuanto a la formación de clamidiosporas para la identificación de hongos del género candida, se observó la formación de clamidiosporas en un 100%.

De acuerdo a la producción de clamidiosporas en relación a su morfología, del género candida, 90% presentaron una clamidiospora terminal típico de la candida albicans, mientras que el 10% tenía 2 clamidiosporas terminales, correspondientes a la candida stellatoidea.

En la técnica del Zimograma se vio la fermentación de los hidratos de carbono típicos de la Candida albicans en un porcentaje de 90, y con un 10% la candida stellatoidea.

Sobre la identificación de Auxonograma, el 90% de las muestras biológicas mostraron asimilación de los carbohidratos de la Glucosa, Galactosa, Maltosa y Sacarosa exceptuando la Lactosa típico de la candida albicans, mientras que el 10% mostraron asimilaciones de azúcares tales como la Glucosa, Galactosa y Maltosa exceptuando la Lactosa y Sacarosa típicas del candida stellatoidea.

Del 100% de las especies identificadas en el presente trabajo, el 90% fueron candida albicans y el 10% restante fueron candida stellatoidea.

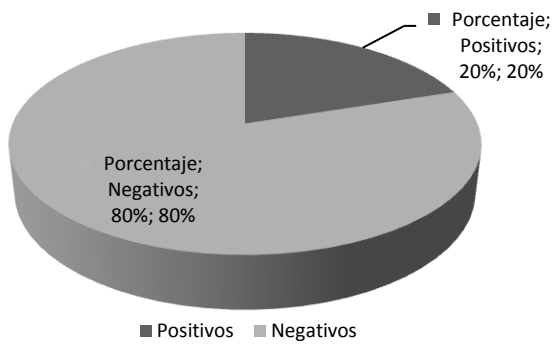
## Presentación de los resultados

### Resultados preliminares

Casos	Muestra	Porcentaje
Positivos	20	20%
Negativos	80	80%
Total	100	100%

**Tabla 2** Casos positivos y negativos del total de muestras procesadas Sucre - 2011

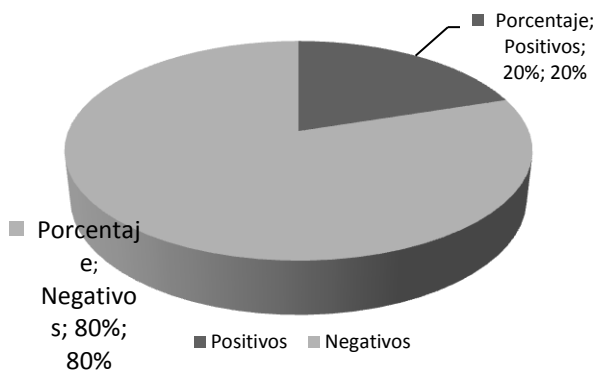




**Grafico 1** Total de muestras procesadas

Casos	Muestra	Porcentaje
Positivos	20	20%
Negativos	80	80%
Total	100	100%

**Tabla 3** Casos positivos y negativos mediante la observación directa para levadura del genero candida Sucre – 2011

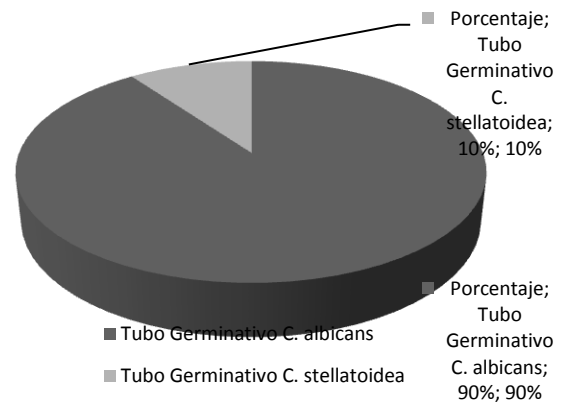


**Grafico 2** Casos positivos y negativos mediante la observacion directa para levadura del genero candida

**Resultados finales específicos**

Tubos Germinativos	Muestra	Porcentaje
Tubo Germinativo C. albicans	18	90%
Tubo Germinativo C. stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

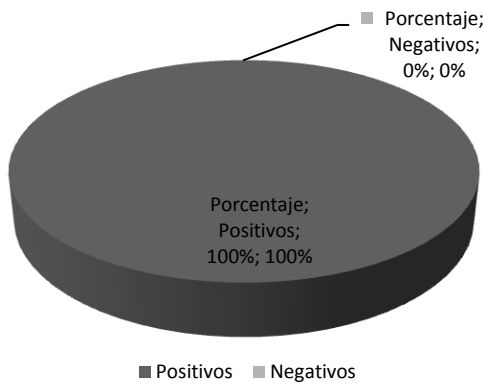
**Tabla 4** Casos positivos y negativos para la identificación de la prueba del tubo germinativo para hongos del genero candida, Sucre – 2011



**Grafico 3** Casos positivos y negativos para la identificación de la prueba del tubo germinativo para hongos del genero candida, Sucre – 2011

Formación de Clamidosporas	Muestra	Porcentaje
Positivos	20	100%
Negativos	0	0%
Total	20	100%

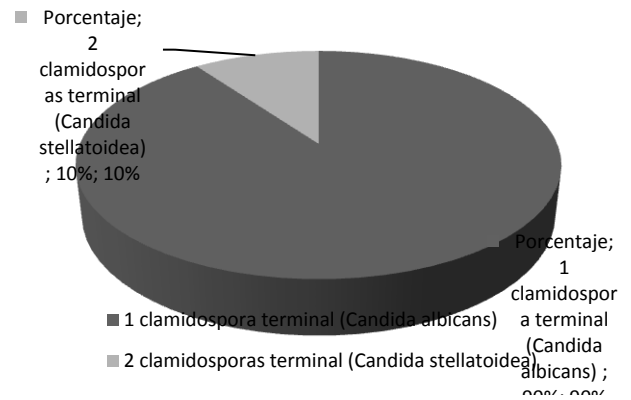
**Tabla 5** Casos positivos para la formación de clamidosporas para la identificación de hongos del género candida Sucre – 2011



**Grafico 4** Casos positivos para la formación de clamidosporas para la identificación de hongos del genero candida Sucre – 2011

Formación de Clamidosporas	Muestra	Porcentaje
1 clamidospora terminal (Candida albicans)	18	90%
2 clamidosporas terminal (Candida stellatoidea)	2	10%
Total	20	100%

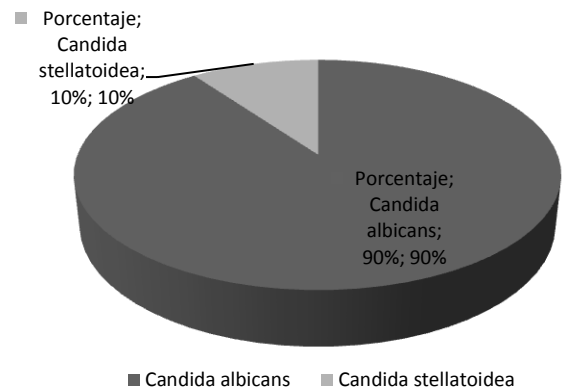
**Tabla 6** Casos positivos de producción de clamidosporas de acuerdo a la morfología de hongos del genero candida Sucre – 2011



**Grafico 5** Casos positivos de producción de clamidosporas de acuerdo a la morfología de hongos del genero candida

Especie	Muestra	Porcentaje
Candida albicans	18	90%
Candida stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

**Tabla 7** Casos identificados según la técnica de zimograma Sucre – 2011

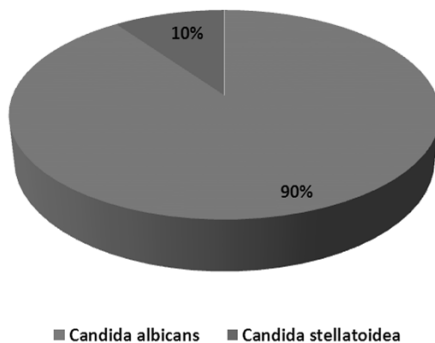


**Gráfico 6** Casos identificados según la técnica de zimograma Sucre – 2011

Carbohidratos	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa
Especies				
Candida albicans y candida stellatoidea	Ag	Ag	-	-

**Tabla 8** Referencia

Especie	Muestra	Porcentaje
Candida albicans	18	90%
Candida stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

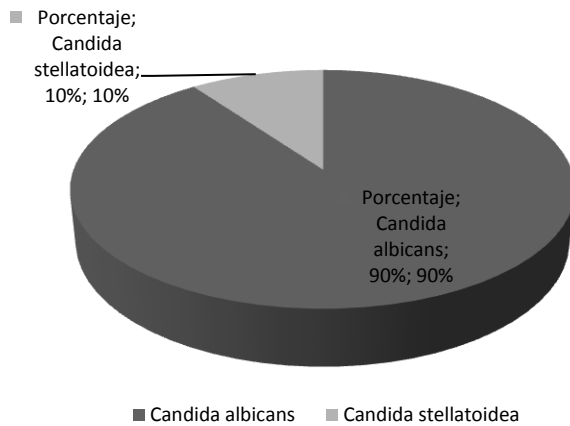
**Tabla 9** Casos identificados según la técnica de auxonograma Sucre – 2011**Gráfico 7** Casos identificados según la técnica de auxonograma Sucre – 2011

Carbohidratos	Glucosa	Galactosa	Lactosa	Maltosa	Sacarosa
Especies					
Candida albicans	+	+	-	+	+
Candida stellatoidea	+	+	-	+	-

**Tabla 10** Referencia

Especie	Muestra	Porcentaje
Candida albicans	18	90%
Candida stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

**Tabla 11** La identificación de las especies del género candida en candidiasis vulvovaginal en gestantes que acuden al hospital gineco obstetrico dr. Jaime sanchez porcel sucre 2011



**Gráfico 8** La identificación de las especies del género candida en candidiasis vulvovaginal en gestantes

### Análisis y discusión

- La etapa gestacional de este grupo etareo de mujeres es un factor muy importante es este tipo de infección debido a los cambios fisiológicos, bajas defensas del organismo y los malos hábitos de higiene.
  - Se debe señalar que las pacientes que dieron resultados positivo con el examen directo de igual manera mostraron positividad para hongos tipo Candida con el cultivo en agar sabouraud (aislamiento primario).
  - Además se debe hacer notar que con la prueba del tubo germinativo se confirmó todos los resultados previos, de las gestantes con resultados positivos. Considerando la prueba del tubo germinativo es rápida y confiable para la identificación de Candida albicans.
- Se debe destacar la importancia de los cuidados que este tipo de pacientes necesitan y requieren para la mejoría de su salud.

### Conclusiones y recomendaciones

#### Conclusiones

- La Candidiasis vulvo-vaginal es una infección que afecta principalmente a pacientes en etapa gestacional, debido a los cambios fisiológicos y bajas defensas del organismo propias del embarazo, por lo tanto es de suma importancia el estudio de la Candidiasis Vulvo-vaginal y por ende el presente trabajo aborda uno de los problemas de salud más frecuentes, considerándose como universo potencial a las personas en estado de embarazo que asisten al Hospital Gineco-Obstétrico Dr. Jaime Sánchez.
- Se ha determinado que la Candidiasis albicans en personas embarazadas es muy frecuente y que el 20% de estos pacientes presenta el crecimiento del hongo del género Candida y el 80% no desarrolló crecimiento de dicho hongo en el medio de cultivo de Agar SAB+C
- Se debe señalar que en la prueba del tubo germinativo el 100% de las muestras de las pacientes con candidiasis dieron positivo para el hongo del genero Candida. El método es fácil de aplicar, altamente confiable y muy útil para la identificación de las especies más importantes de Candida en aislamientos vaginales. Es relativamente de bajo costo y puede tener el resultado de la especie aislada en menos de 24 horas.

- Los métodos utilizados en base a los compuestos de carbono como la fermentación y la asimilación de las fuentes de carbono y de hidrogeno intificaron 90% como *C. albicans* y el 10% como *C. stellatoidea*.

### Recomendaciones

- Por lo que hasta aquí se observó del trabajo en cuestión, se puede recomendar lo siguiente:
- Socializar el presente trabajo entre todos los centros médicos para que en función a la magnitud de este problema social se establezca como un examen rutinario la identificación de la *C. albicans* mediante las técnicas mencionadas anteriormente.
- Sugerir a los Bioquímicos en el área de micología, disponer de técnicas adecuadas, rápidas y confiables, como la prueba de tubo germinativo como parte del diagnóstico para candidiasis vulvovaginal, brindando al médico clínico en el proceso diagnóstico de las infecciones fúngicas, colaborando así en el inicio de terapias antimicóticos apropiadas y precoces.
- Concientizar a las mujeres embarazadas a mejorar sus hábitos higiénicos, haciendo hincapié sobre el riesgo que implica el no tener buenos hábitos de higiene.

### Agradecimientos

La investigadora agradece a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

### Referencias

“Bolivia” de Elías. Edición año 2003. La Paz-Bolivia.

Honorable Alcaldía Municipal de Sucre. Disponible en: <http://www.sucre.gob.bo/pdm-2010>

Instituto Nacional de Estadística. 2006.

Instituto Nacional de Estadísticas. Anuario Estadístico 2006.

<sup>(5)</sup>Plan estratégico “Hospital Gineco-Obstétrico “Dr. Jaime Sánchez Porcel” 2004

<sup>(6)</sup>

<http://www.monografias.com/trabajos19/candida/candida.shtml#pato>

<sup>(7)</sup> LaCAZ, C. da S. Classificação das leveduras. 2004. p. 109-120.

<sup>(8)</sup> Johnson, S.A.M. Candida (Monilia) albicans. 2001. P. 70: 49-60.

<sup>(9)</sup> Mackenzie, D.W.r. Morphogenesis of Candida albicans in vivo. Sabouraudia 3: 225-232, 2001.

<sup>(10)</sup> reynolds, r. & Braude, A. The filament inducing property of blood for Candida, 2000.

<sup>(11)</sup> Burckley, H.r. “Methods in Microbiology”, 2002, v. 4. p. 466-468.

<sup>(12)</sup> Ahearn, D. G. roth, F.J. Jr.; Fell, J. W. & Mayers, S. P.-Use of shaken cultures in the assimilation test for yeast identification., 2004.

<sup>(13)</sup> Joshi K. r.; Gavin, J. B. & Wheeler, E. E, A scanning electron microscopic study of the morphogenesis of Candida albicans in vitro., 2000

- (14) Gentles, J. C. & La Touche, C. J. *Biology of Yeasts*. 2003. v. 1. p. 107-182.
- (15) Joly, S. Contribuição ao estudo da sistemática de leveduras ocorridas em frutos maduros, 2003.
- (16) Van Uden, N. & Carmo-Sousa, L. *Candida slooffii*, a thermophilic and vitamin deficient yeast from the equine intestinal tract., 1999.
- (17) Berikhout, C. M. *De Schimmelgeschlachten Monilia, Oidium, Oospora*, 2003.
- (18) Van Uden, N. & Carmo-Sousa, L. *Candida slooffii*, a thermophilic and vitamin deficient yeast from the equine intestinal tract., 2000.
- (19) Langeron, M. & Guerra, P. *Nouvelles recherches de zymologie médicale*, 2003.
- (20) Diddens, H. A. & Lodder, J. "Centraalbureau voor Schimmelcultures", 2006.
- (21) Lodder, J. & Kreger-Van rij, N.J.W. *The Yeasts*. 2001.2002. p. 1-62.
- (22) Bakerspigel, A. *Soil-extract agar for Candida albicans*. P. 69: 735-737, 2003.
- (23) Silva-Hutner, M. & Cooper, B.H. *Manual of Clinical Microbiology*, 2003. p. 491-507.
- (24) Barnett, J. A. & Pankhurst, r. J. *American Elsevier Publishing Co.*, 2004, p. 9, 7 1-236.
- (25) McGnnis, M. r. *Laboratory Procedures in Clinical Mycology.*, 2000.
- (26) Walt, J. P. VanDer. *Criteria and methods used in classification*. 1999. p. 34-113.
- (27) Davenport, r. r. *Mycology and Taxonomy of Fungi in Fruit Juices*. 2003.
- (28) Beijerinck, M. W. *L'auxanographie, ou la méthode de l'hydro diffusion dans la gélatine appliquée aux recherches microbiologiques*, 2000.
- (29) Wickerham & Burton L. J. *A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests commonly used in the classification of yeasts.*, 2004.
- (30) Kapica, L.; Clifford, A. & Noik, M. *Mycopath, Myc.*, 2000.
- (31) Rivalier, E. & Seydel, S. *Cultures minces sur lames gélosées, colorées et examinées "in situ" en préparations définitives pour l'étude des Cryptogames microscopiques*, 2002.
- (32) [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S037507602006000300014&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S037507602006000300014&script=sci_arttext&tlng=es)
- (33) Gresham, G. A. & Wittle, C. H. *Studies of the invasive mycelial form of Candida albicans. Sabouraudia 1: 30-33*, 2001.
- (34) Hurley, r. *The pathogenic Candida species*, 2003.
- (35) Louria, D.B.; Fallon, N. & Browne, HG. *The influence of cortisone on experimental fungus infections in mice*, 2002.
- (36) roth, F.J. Jr.; Syverton, J.T. & Friedman, J. *The effects of rontgen radiation and cortisone upon experimental moniliasis*, 2001.
- (37) Winner, H.I. & Hurley, r. *Culture media. Experimental Candidosis*, 1994. p. 193-213.

<sup>(38)</sup> Murillo De Linares, L. & Marin, C. Proceedings of the Fourth International Conference, 2003. p. 124-133

<sup>(39)</sup> Taschdjian, C. L.; Burchall, J. J. & Koznin, P. J. rapid identification of Candida albicans by filamentation on serum and serum substitutes. 212-215, 1999.

<sup>(40)</sup> Dalmau, L.M. remarques sur la technique mycologique, 2002.

<sup>(41)</sup> Christensen, W. B. Urea clecomposition as a means of differentiating Proteus and Paracolon, 2004.

<sup>(42)</sup> CarlosDaSilvaLacaz (org)- Candidiasis I., 2001.

## Identificación de portadores de staphylococcus aureus (nariz y manos) en el personal de salud del hospital universitario “AntonBoelVilladsen”, en la gestión 2008

BARRIOS-Blanca† & GONZALES-Virginia

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre- Bolivia*

Recibido 17 de Marzo, 2014; Aceptado 08 de Agosto, 2014

### Resumen

Con el fin de identificar a los portadores de *S. aureus* en las fosas nasales y las manos en el personal "Anton Villadsen Böel" Hospital Universitario de la ciudad de Sucre, en el primer semestre de la gestión 2008, un estudio descriptivo fue diseñado. Identificación del organismo se basó en los resultados del cultivo en manitolagar, habiéndose realizado las pruebas de tinción de Gram, prueba de catalasa y coagulasa susceptibilidad. Antibacterial aplicar el método de Kirby Bauer Pediatría con 6.45% (6 personas).

**Entrenamiento, micro y pequeñas empresas, Sucre**

### Abstract

In order to identify carriers of *S. aureus* in nasal passages and hands on staff" Anton Villadsen Böel " University Hospital in the city of Sucre, in the first half of 2008 management, a descriptive study was designed. Identification of the organism was based on culture results in manitolagar , Gram stain , catalase test and coagulase susceptibility tests having been made . Antibacterial applying the method of Kirby Bauer Pediatrics with 6.45% (6 people).

**Training, micro and small companies, Sucre**

**Citación:** BARRIOS Blanca & GONZALES Virginia. Identificación de portadores de staphylococcus aureus (nariz y manos) en el personal de salud del hospital universitario “AntonBoelVilladsen”, en la gestión 2008. Revista de Energía Química y Física 2014, 1-1:144-178

† Investigador contribuyendo como primer autor



## Introducción

Los *Staphylococcus* bacterias Gram positivas, aerobios o anaerobios facultativos que pertenecen a la familia *Micrococcaceae* que incluye a los cocos Gram positivos catalasa positivos, junto con los géneros *Micrococcus*, *Stomatococcus* *Planococcus*.

El *S. aureus* es una especie patógena que produce infecciones cutáneas, como: impétigo, infecciones de heridas, infecciones asociadas a elementos protésicos (prótesis) hasta infecciones severas a veces fatales como: osteomielitis, endocarditis y bacteriemia con complicaciones metastásicas. Como toda enfermedad infecciosa el contagio se efectúa en la comunidad o centros hospitalarios.

En consecuencia, la población en riesgo de padecer infecciones por *S.aureus* encontramos a pacientes hospitalizados, inmunocomprometidos, pacientes con enfermedades subyacentes, recién nacidas, víctimas de trauma y quemaduras, drogadictos e individuos neutropénicos que pueden tener severas consecuencias a pesar de la terapia antimicrobiana. En consecuencia, la prevención de las infecciones *Staphylocócicas* en los centros hospitalarios, es importante.

Para evitar la propagación de las infecciones *Staphylocócicas*, es necesario investigar a los portadores (colonizados) por esta bacteria, entre los cuales se encuentran al personal de salud por estar en contacto directo con los pacientes.

Siguiendo a Koneman <sup>(1)</sup>, el personal de salud colonizado alcanza entre un 20 al 40% constituyendo un importante reservorio y diseminador de la cepa, pues este patógeno se transmite fácilmente por las manos del personal intrahospitalario que transmite las cepas de *S. aureus* a pacientes.

En Bolivia, los estudios sobre infecciones intrahospitalarias adquieren importancia a partir del año 1998, registrándose en esa gestión una letalidad intrahospitalaria general en el primer nivel de atención de 0.6% a 4.9%; en el segundo de 1.8% a 7.7% y de 3.1% a 6.5% en los centros de tercer nivel.<sup>(16)</sup> En nuestro país son pocos los estudios realizados sobre infecciones nosocomiales causadas por *S. aureus*, pudiendo citarse el realizado por la Sociedad Boliviana de Pediatría enero del 2000 a octubre del 2001 en la Sección Pediatría del Hospital “Dr. Ovidio Aliaga Uria” en Santa Cruz muestran datos generales sobre los microorganismos aislados de muestras clínicas, cuyos porcentajes fueron: *Pseudomonas aeruginosa* (37.5%), *Sr.aureus* (33.3%) y *Escherichiacoli* (22.2%).

En consecuencia, al constituir el *S.aureus*, uno de los principales microorganismos causante de enfermedades nosocomiales, se consideró la importancia de detectar la bacteria en el personal que presta servicios en el Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen” de la ciudad de Sucre, en consideración a que el personal de un centro de salud puede ser portador y diseminador de este patógeno.

Con estos antecedentes, se estableció la necesidad de realizar la investigación con el fin de detectar la condición del portador de *S. aureus* en personal de salud del Hospital “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre y para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas.

### Definición del problema

Los portadores de *S. aureus*, en fosas nasales y manos, constituyen uno de los factores esenciales en la epidemiología de infecciones Staphylococicas, si consideramos que en los últimos 20 años el *S. aureus* ha emergido como un importante patógeno de infecciones nosocomiales.

Los funcionarios que prestan servicios en centros nosocomiales, al estar en permanente contacto con pacientes infectados con *S. aureus*, son susceptibles de constituirse en portadores y por ende reservorios de este patógeno, en tal sentido es necesario realizar la detección de este microorganismo en las fosas nasales y manos en este personal, con el propósito de evitar su diseminación y para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *S. aureus* aisladas de portadores.

### Planteamiento del problema

¿Cuál será el porcentaje de portadores nasales y/o en manos de *S. aureus* del personal de salud que trabaja en el Hospital Universitario AntonBoelVilladsen, de la ciudad de Sucre, durante el primer semestre de la gestión 2008?

### Objetivo General

Determinar el porcentaje de portadores de *S. aureus* en fosas nasales y/o manos del personal de salud que trabaja en el Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre, durante el primer semestre de la gestión 2008

### Objetivos Específicos

Determinar la frecuencia de *S. aureus* en el personal de salud del Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen”, durante el primer semestre de la gestión 2008. Determinar la frecuencia de portación de *S. aureus* según sitio anatómico.

Establecer la relación de la portación de *S. aureus*, según las variables consideradas en el estudio.

Determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana del *S. aureus* a la oxacilina, eritromicina, clindamicina, vancomicina, tetraciclina, cloranfenicol, ciprofloxacina y gentamicina de las cepas aisladas en el personal de salud portador, en el primer semestre de la gestión 2008.

### Hipótesis

Aproximadamente un 30% del personal de salud que trabaja en el Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre, es portador de *S. aureus* en fosas nasales y/o en manos, durante el primer semestre de la gestión 2008

## Justificación

Al constituir el *S.aureus* uno de los microorganismos patógenos importantes de la etiología de infecciones intrahospitalarias, su aislamiento en portadores del personal de salud y la determinación del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas, tienen interés científico y significación clínica; si se toma en cuenta que este microorganismo a nivel mundial se ha incrementado en número de casos y asimismo la gravedad de los cuadros clínicos que se presentan en pacientes hospitalizados, influyendo negativamente en su tratamiento que establece una mayor permanencia en el hospital y un aumento en los costos para su curación.

Los resultados del estudio son de utilidad para las autoridades sanitarias y director del nosocomio, al conocer con certeza la prevalencia de portadores de *S.aureus* en el personal de ese centro de salud, que permitirá adoptar medidas sanitarias preventivas, evitar casos o brotes nosocomiales por esta bacteria. También será importante para el personal de salud portador del *S. aureus*, al conocer su estado o condición de portador para adoptar medidas necesarias para evitar la diseminación del microorganismo.

Será de utilidad para los profesionales del área de salud que deseen realizar investigaciones sobre cepas de *S. aureus*, al contener el presente estudio datos estadísticos confiables sobre la prevalencia de este microorganismo y su susceptibilidad antimicrobiana en portadores que trabajan en el Hospital Universitario "Antón Böel Villadsen" de la ciudad de Sucre.

## Marco Contextual

### Político

El Estado Plurinacional de Bolivia es un Estado que tiene una extensión territorial de 1.098.581 km<sup>2</sup>, esta conformada por 9 departamentos: Chuquisaca, Santa Cruz, La Paz, Cochabamba, Oruro, Potosí, Tarija, Beni y Pando.

Localizada en la parte central de Sud América, entre los meridianos 57° 25' y 69° 38' de longitud oeste de Greenwich y los paralelos 9° 40' y 22° 53' de latitud sur<sup>(19)</sup>, limitado al Norte y al Este con la República de Brasil, al Sur con la República Argentina, al Oeste con la República de Perú, al Sudeste con la República del Paraguay y al sudoeste con la República de Chile.

Chuquisaca fue creada el 23 de enero de 1826 durante el gobierno del Mariscal. Antonio José de Sucre<sup>(19)</sup>, tiene una superficie territorial de 51.524 Km., una población de 631.062 habitantes (Proyección del INE al 2008)<sup>(20)</sup> Sucre es la Capital del Estado, se encuentra situada en la parte septentrional del Departamento de Chuquisaca, entre los 19° 3' 2" de latitud sur y los 65° 47' 25" de longitud oeste del meridiano de Greenwich.<sup>(19)</sup>

### Social

Bolivia, según datos del Instituto Nacional de Estadísticas (INE Bolivia) la población total estimada para el año 2008 es de 10.027.643 habitantes, correspondiendo el 65.56% al área urbana y el 33.44% al área rural, teniendo una densidad de 9,13 habitantes por Km<sup>2</sup> está considerada como nación de desarrollo humano mediano, con una ubicación en el rango 112 según índice de desarrollo humano alcanzado y el lugar 99 entre 146 países de Desarrollo Relativo o menos adelantados.

El año 2007 el índice de pobreza en Bolivia alcanzo al 60,10% de la población (En el área rural 77,29% y en el área urbana 50,90%) y el índice de extrema pobreza el 37,70%, en el área rural el 63,94% y en el área urbana del 23,77 % (INE).<sup>(20)</sup>. Al año 2007, la tasa de analfabetismo alcanzo al 9,26%, según el INE.

La política social está establecida en el Plan General de Desarrollo Económico y Social (PGDES), que se denomina “Para Vivir Mejor”. Los cuatro pilares del Plan de Gobierno son: Dignidad, Institucionalidad, Oportunidad y Equidad tomando como eje fundamental de éste, la Estrategia Boliviana de “Lucha contra la Pobreza” (EBRP), prevista en la Ley 2235 “Dialogo Nacional 2000”.

Chuquisaca tiene una extensión de 51.524 Km<sup>2</sup> y una densidad de 12,24 hab./Km<sup>2</sup>. Del total de la población el 49,03% son hombres y el 50,97% son mujeres. La tasa anual de crecimiento alcanza al 1,71% (Urbana del 4,73% y rural del 0,25%).

Chuquisaca al año 2007 tenía una tasa de analfabetismo del 29 % (20 % hombres y 27% mujeres). La población que tiene acceso al agua potable alcanza al 55% (Urbana 95% y rural del 28%) y al servicio de alcantarillado del 40% (Urbana del 84% y rural del 14%).

El Municipio de Sucre esta ubicado en la Provincia Oropeza del Departamento de Chuquisaca tiene una superficie de 1.876,91 Km<sup>2</sup> y una población de 288.289 según proyecciones del INE al año 2008. Tiene una densidad del 153,59 habitantes por Km<sup>2</sup> que representa el 45,68% de la población total del Departamento de Chuquisaca. De cuya población existen 91,9 hombres por cada 100 mujeres. La tasa de crecimiento alcanza al 3,70%.

La tasa de alfabetismo del Municipio de Sucre al 2007es del 87,78% (área urbana 90,75% y área rural del 58,13%)

El Municipio de Sucre tiene una incidencia de pobreza del 40%, con una población que vive en extrema pobreza del 31,6% y un índice de desarrollo humano (IDH) del 0,69%.

### Económico

En Bolivia y Chuquisaca, la evolución del Producto Bruto Interno per cápita, durante el periodo 2003 a 2007, se establece en la tabla N° 1 a continuación:

PIB	2003	2004	2005	2006	2007
Bolivia	894	949	1.010	1.182	1.363
Chuquisaca	691	733	696	852	957

**Tabla 1** Producto bruto interno de Bolivia y Chuquisaca en \$us

### Contexto demográfico y de salud

En Bolivia, la esperanza de vida al nacer es de 65,68 años (67,87 años para las mujeres y 63,59 para los varones). Los menores de 22 años representan más del 50% de la población y los mayores de 65 años sólo el 4,48%, según datos del INE al año 2007.

El bajo incremento de la población se debe a la elevada mortalidad infantil, cuya tasa alcanza a 44,68 por 1.000 nacidos vivos menores a un año. La tasa cruda de natalidad al año 2008 según proyecciones del INE es de 27,39 nacidos por cada 1.000 habitantes y la tasa bruta de mortalidad según proyecciones del INE para este año es de 7.49 defunciones por mil habitantes.

La tasa de mortalidad general por todas las causas fue más alta en los hombres (1.102 por 100.000 habitantes) que en las mujeres (897). La mortalidad por enfermedades del sistema cardiovascular tuvo una frecuencia similar en ambos sexos; por neoplasias fue 1,5 veces mayor en mujeres que en hombres; por causas externas fue 2,5 veces mayor en hombres que en mujeres, y por enfermedades transmisibles fue 1,2 veces mayores en hombres que en mujeres.

Los servicios de salud están organizados en redes, que comprenden cuatro niveles de gestión (nacional, departamental, municipal y local o establecimiento de salud) y tres niveles de atención (primero, segundo y tercero)

En las áreas urbanas, existe una concentración de servicios de salud (hospitales, centros y postas). A pesar de ello, hay deficiencias en la atención, debido a una falta de calidad, calidez y de acceso a estos servicios por grupos excluidos, como los adultos mayores, los niños que trabajan o viven en la calle, los indigentes y otros grupos vulnerables.

En la zona periurbana, hay un déficit de servicios de salud, debido a la existencia de un número limitado de hospitales, centros y puestos de salud. Adicionalmente a los problemas anteriores, se destaca la falta de personal para brindar atención. La mayoría de las poblaciones rurales carece de médicos para realizar las actividades de salud, por lo que esta tarea recae en los auxiliares de enfermería. Al año 2007 según datos del INE los indicadores más importantes de la salud en Bolivia, se resumen en la tabla N° 2:

Estadísticas e indicadores	Bolivia
Establecimientos de Salud	3.145
Número de Camas en establecimientos de salud	14.928 23.397
Episodios de Diarrea en menores de 5 años, atendidos en servicio	13.431 7.613
Casos de Neumonía en menores de 5 años, atendidos en servicio	362.453 200.025
Número de Nacidos con Bajo Peso al Nacer	162.428 15.060
Consultas Prenatales Nuevas	126.334
Consultas de Control Prenatal Antes del Quinto Mes	148.120 177.142
Consultas de Control Prenatal Después del Quinto Mes	312.374 647.061
Partos domiciliarios atendidos por personal de salud	645.834 44.737
Número de mujeres con 1º control post parto	12.209.456 3.688.516
Número de Mujeres con el Cuarto Control Prenatal	
Total Partos Atendidos(dentro y fuera de servicio)	
Mujeres con muestra de Citología cérvico vaginal (PAP) tomada	
Número de dosis aplicadas de vacuna pentavalente en menores de 1 año	
Número de dosis aplicadas de vacuna antipolio en menores de 1 año	
Número de dosis aplicadas de vacuna BCG en menores de 1 año	
Consultas Externas Nuevas	
Consultas Externas Repetidas	

**Tabla 2** Bolivia: Estadísticas e indicadores en salud-2007 (preliminar)

### Salud en el departamento de Chuquisaca

En virtud al proceso de descentralización administrativa, en los departamentos se crearon los Servicios Departamentales de Salud (SEDES) dependientes de las Prefecturas Departamentales, con la misión de articular las políticas nacionales, regionales y de gestión Municipal, promoviendo el ejercicio pleno de los derechos de salud, con participación social y enfoque de interculturalidad, desarrollando servicios de salud con calidad, eficacia, eficiencia, equidad y transparencia para contribuir al desarrollo de la salud integral de la población.

A nivel Municipal funcionan los Directorios Locales de Salud (DILOS) que constituyen la máxima autoridad de salud en el ámbito municipal y que como tal, debe armonizar las prioridades locales con la gestión técnica sectorial que es responsabilidad de SEDES, para el cumplimiento de las políticas, estrategias, planes y programas nacionales de salud.

Entre los principales Indicadores de salud de Chuquisaca, tenemos una tasa de mortalidad infantil que alcanzó el año 2007, según datos del INE a 67 por mil nacidos vivos, superior al promedio nacional que es de 44,78. Los municipios de Presto con un 116,6, Poroma con 109,8 y Tarabuco con 103,5 tienen la mortalidad más alta del departamento. La mortalidad general alcanza al 9,5 por mil habitantes, la mortalidad infantil de niños menores de cinco años es de 105 por cada mil nacidos vivos y la tasa de mortalidad materna alcanza a 262 por 100.000. La Mortalidad Neonatal Hospitalaria temprana en los hospitales de segundo y tercer nivel del departamento de Chuquisaca, alcanza a un 8.3 por mil nacidos vivos.

La esperanza de vida en el departamento de Chuquisaca es de 61 años (hombres 59 y mujeres 63 años) y la razón de mujeres en edad fértil es de 27,3 por cada 100 mujeres.

Municipio de Sucre

Establecimiento por subsectores	Número
Ministerio de Salud y Deportes	39
Municipio Sección Capital Sucre	48
Seguridad Social	9
Iglesia	9
ONG's	14
Privados	4
Fuerzas Armadas	1
Total	124

**Tabla 3** Establecimientos de salud por subsectores

Establecimientos por subsectores	Número
Primer nivel	109
Centros de salud	96
Puestos de salud	13
Segundo nivel	9
Tercer nivel	6
Total	124

**Tabla 4** Establecimientos de salud por nivel de atención

### Hospital Universitario "Dr. Antón Böel Villadsen"

A partir del año 1995 -en Sucre- se desarrolla el Proyecto Integrado UNI-Sucre dependiente de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca financiado por la Fundación W. K. Kellog.<sup>(24)</sup>

Teniendo como Instituciones Responsables y Operativas:

- Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca
- Servicio Departamental de Salud-Chuquisaca (SEDES-Chuquisaca)
- Organizaciones Comunitarias establecidas en el Distrito
- Alcaldía Municipal de Sucre (Se integró al Proyecto en aplicación de las Leyes de
- Descentralización Administrativa y Participación Popular)

Uno de los componentes estratégicos definidos en el Proyecto UNI-Sucre, fue la construcción e implementación de un Hospital Básico de Apoyo en el Distrito II de la ciudad de Sucre, iniciando obras para la construcción del Hospital el 19 de octubre de 1998, realizándose la entrega a la Comunidad en fecha 3 de agosto de 2005.

La construcción del Hospital se efectuó con el financiamiento del Proyecto W. K. Kellog, en un principio y posteriormente con aportes de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca. Su equipamiento se realizó con recursos financieros del Fondo Productivo Social F. P. S. y con la valiosa cooperación del Dr. Antón BöelVilladsen, razón para que el hospital lleve su nombre.<sup>(24)</sup>

A la conclusión del Proyecto UNI II y al no contarse con la cooperación de la Fundación Kellog, en la actualidad el Hospital depende de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca como

Unidad Desconcentrada, en virtud a Resolución Rectoral N° 077/ 2006 de 13 de marzo de 2006.

El Hospital, efectúa las siguientes prestaciones en beneficio de la comunidad:

- Seguro Materno Infantil (SUMI)
- Seguro al Adulto Mayor (SSPAM)
- Cirugía general
- Cirugía vascular periférica
- Traumatología
- Urología
- Anestesiología
- Medicina interna
- Cardiología
- Gastroenterología
- Pediatría
- Neonatología
- Ginecología
- Obstetricia
- Neurología
- Odontología
- Fisioterapia
- Psicología
- Farmacia
- Laboratorio Clínico
- Ecografía
- Rayos X

- Angiografía
- Salas de internación
- Servicio de enfermería
- Urgencias médicas las 24 horas del día
- Servicio de ambulancia

El Hospital Universitario hasta la fecha atendió a más de 30.500 personas, con un promedio de 205 pacientes por día, de acuerdo al siguiente detalle:

- 70 en pediatría
- 57 en ginecología
- 23 en salud oral
- 30 en medicina general
- 20 en traumatología
- 5 en cardiología

La Infraestructura del Hospital Universitario se encuentra construida en dos mil cuatrocientos cincuenta y un metros cuadrados construidos 2.451 m<sup>2</sup>.

El Hospital Universitario actualmente cuenta con 61 camas distribuidas, de la siguiente manera: Neonatología 11 camas, Pediatría 13, Ginecología 7, Obstetricia 6, Medicina Interna 13 y Cirugía 11.

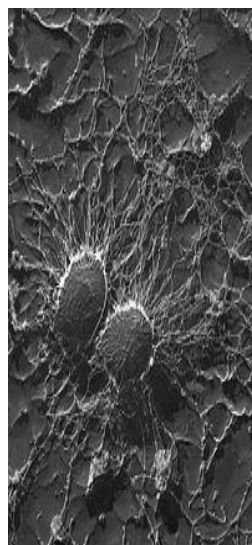
El personal que presta servicios en el Hospital esta compuesto por 139 funcionarios de acuerdo al siguiente detalle: 60 médicos, 32 licenciadas en enfermería, 5 auxiliares de enfermería, 4 bioquímicas, 2 técnicos superior en laboratorio, 1 farmacéutica, 4 odontólogos, 2 radiólogos, 3 fisioterapeuta, 15 internos de medicina, 7 trabajadores manuales y 4 administrativos.

### Marco teórico

#### Staphylococcus

El género *Staphylococcus* es parte de la familia de los Micrococcaceae y está dividida en 26 especies diferentes que pueden ser patógenas para el hombre y los animales. Los *Staphylococcus* son cocos gran positivos, aero – anaeróbicos facultativos.

#### *Staphylococcus aureus*



#### Clasificación Taxonómica

Reino : Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Staphylococcaceae

Género: *Staphylococcus*

Especie: *S. aureus*

**Figura 1** *Staphylococcus aureus*



### Habitat

Como todos los Staphylococcus, el S.aureus, está presente en el medio (aire, agua, suelo, alimentos, mobiliario y materiales) y es muy frecuente en el estado de comensal sobre la piel y las mucosas de los organismos humanos y animales.

### Morfología

El S. aureus, se presenta bajo el aspecto de cocos reunidos en diplococos o en racimos inconstantemente capsulados.

### Características en cultivo

El S.aureus, se desarrolla rápidamente sobre los medios usuales, se acomoda a grandes variaciones de pH y de temperatura de crecimiento (10 a 45 C°). La mayor parte de las cepas elaboran un pigmento que da un color dorado a la colonia.

El S.aureus, es capaz de crecer en medio hipersalino (salazón) y de sobrevivir largo tiempo en el medio exterior. El estudio en el laboratorio de sus características metabólicas y fisiológicas permite su identificación.

### Estructura Antígena

Existen tres antígenos estructurales de especie:

El péptidoglicano, que puede ocasionar en el hospedero efectos tales como la fiebre, activación del complemento y del quimiotactismo, trombocitopenia y dermonecrosis.

El ácido ribitol – teicoico, poco tóxico, induce la formación de anticuerpos, por lo que el dosage sérico puede ser utilizado para el diagnóstico

La proteína A, ella tiene por característica de fijarse sobre el fragmento fc de las inmunoglobulinas G de las subclases G1, G2 Y G4 de los sueros humanos normales (propiedad utilizada para la preparación de los bio-reactivos).

La pared del S.aureus, contienen también numerosos antígenos específicos de tipo donde la respuesta en evidencia es utilizada en epidemiología (serotificación).

Ciertas cepas de S.aureus, elaboran en su superficie una cápsula verdadera, una sustancia polisacárida viscosa denominada (slime) que tiene propiedades de adhesión.

Existen también en la superficie de los Staphylococcus, receptores bacteriofágicos la utilización de bacteriófagos específicos (lisotipia) permite llevar a cabo encuestas epidemiológicas.

### Sustancias elaboradas

#### Las toxinas proteicas

Las hemolisinas o estafilosinas: muchas han sido descritas (alfa, beta gama, delta). La estafilosina alfa sintetizada por el 80 al 90 % de las cepas, es activa sobre los hematíes, sin embargo también sobre el músculo liso (vasoconstricción), ello entraña una liberación de histamina. La búsqueda de anticuerpos que ella induce (antiestafilolisina alfa) es utilizada para el serodiagnóstico.

La leucocidina, formada por dos constituyentes proteicos, es toxica para los granulocitos, macrófagos y basofilos.

Las exfoliatinas o toxinas epidemolíticas A y B, tienen un tropismo cutáneo y no existen más que en *S.aureus*, su acción es específica, ella se traduce por impacto intraepidérmico a nivel del estrato granuloso determinando la aparición de ampollas.

La patogenia de las lesiones clínicas depende de la localización de la cepa y del estado inmunitario del paciente. Cuando el no posee anticuerpos contra la exfoliatina, ella se difunde por la sangre y da lugar a lesiones generalizadas (enfermedad de Ritter, o síndrome de la piel escaldada).

En el caso de impétigo ampolloso hay anticuerpos circulantes, la cepa puede ser aislada del líquido cutáneo y producir la toxina in situ.

La proporción de sujetos que poseen anticuerpos es de 50% a la edad de 10 años y de 80% a la edad adulta, los anticuerpos son transmisibles pasivamente al recién nacido.

Las enterotoxinas son en total 7: A, B, C1, C2, C3, O, E, diferenciados por sus características antigénicas. Un poco más de la mitad de cepas de *Staphylococcus* producen muchas enterotoxinas. Ellos resisten a las enzimas proteolíticas del tubo digestivo y parcialmente al calor.

Estas toxinas son responsables de intoxicaciones alimentarias caracterizadas por la ingestión de la toxina parcialmente secretada en el alimento y puede ser igualmente de una enterocolitis post-antibiótica.

La acción sobre el intestino es indirecta, por intermedio del sistema nervioso vegetativo, en efecto la toxina pasa a la mucosa gástrica y de yeyuno y se localiza sobre diferentes órganos.

La toxina del síndrome de choque tóxico estafilocócico o TSST-1: esta toxina caracterizada recientemente, es producida por el 95% de las cepas aisladas cuando se trata de un síndrome de choque tóxico estafilocócico (SCTS) de origen vaginal y entre el 15 al 20% de las cepas no asociadas a un STCS. Es un mitógeno no específico de los linfocitos T humanos, induce la producción de interleucina 1.

La patogenia de STCS, no siempre es uniforme y queda aún mucho por conocer. La enterotoxina B, es también la causa de casos de STCS.

### **Las enzimas**

La coagulasa libre: *S.aureus* tiene una exoenzima capaz de coagular en algunas horas el plasma humano (o de ratón) citratado, heparinizado u oxalatado, la coagulasa es una sustancia similar (sino idéntica) a la protrombina. Su rol patogénico es doble; ella engloba los cocos en una capa de fibrina, que los protege de la fagocitosis y por otra ella es la causante de la tromboflebitis supurada.

La coagulasa ligada o "clumping factor", esta proteína que es un constituyente de la pared, fija el fibrinógeno y lleva a la aglutinación de los estafilococos.

Una reacción idéntica ha sido observada con la molécula de fibronectina que posee dos sitios de atracción para el *S. aureus*.

La fibrinolisisina o estafilocinasa: esta enzima activa el plasminógeno en plasmina y contribuye al desprendimiento de los coágulos y a la formación de microémbolos bacterianos, responsables de metástasis sépticas.

Otras enzimas: el *S.aureus*, excreta numerosas enzimas de deoxiribonucleasa (termoestable), lipasas, fosfatasas, hialuronidasas, proteasas, lisozimas, beta lactamasa.

### **Poder patógeno natural**

El *S.aureus*, es la especie más frecuente encontrada en el hombre, en el curso de procesos patógenos.

Las estafilococias son esencialmente caracterizadas por lesiones supurativas o necróticas (*S.aureus* es el tipo mismo de germen piógeno).

Ella se acompaña de lesiones venosas caracterizadas por una trombosis séptica. Estas manifestaciones patológicas, están directamente bajo la dependencia de la virulencia del germen y de su poder de multiplicación en los tejidos, asociado a ciertas actividades enzimáticas.

### **Infecciones cutaneas, sub-cutaneas y mucosas**

El forúnculo, ántrax, panadizo, absceso pueden evolucionar de manera aislada o ir hacia la septicemia.

También existen las estafilococias cutáneas o ampollas (impétigo, pénfigo epidémico del recién nacido o enfermedad de Ritter, síndrome de la piel escaldada) debido a la exfoliatina.

La constatación repetida de estafilococia cutáneo-mucosa debe hacer buscar la eventualidad de una diabetes o de un déficit inmunitario.

### **Infecciones de la esfera oral**

Sinusitis, Otitis, Angina, Mastoiditis.

### **Las septicemias**

Frecuentemente secundarias a las fuentes precedentes, ellas son frecuentes (30 a 35% de las septicemias incluyendo a todas las bacterias) e importantes sobre todo en los sujetos con una resistencia disminuida y en los lactantes. La letalidad global es del orden del 20 a 30%. Ellas pueden ser muy agudas, mortales en algunas horas, agudas caracterizadas por numerosas metástasis supuradas (séptico piohemias). También el forúnculo del ala de la nariz puede ser el origen de una entidad nosológica llamada estafilococia maligna de la cara.

Las localizaciones de origen de los trombo-émbolos estafilocócicos son variadas: vasculares (linfangitis y flebitis), pleuro-pulmonares (abscesos bullosos), osteo articulares (osteomielitis aguda o crónica), cardíacos (endocarditis infecciosa, donde el estafilococo ocupa por orden de frecuencia la segunda plaza), genito-urinario (flemón perinefrítico), cerebro-meningeo (absceso de cerebro, meningitis).

### **El síndrome de choque estafilocócico**

Descrito en los niños, ha sido observado, bajo la forma epidémica en las mujeres en un periodo menstrual que utilizan tampones. El debut es brutal, marcado por la fiebre, una temperatura de 39 grados centígrados y una eritrodermia difusa seguida con una convalecencia con descamación escarlatiniforme a nivel de las palmas de las manos y de las plantas de los pies, una hipotensión arterial con estado de choque y afección plurivisceral. La letalidad esta en el orden de 5 a 10%.

## Las intoxicaciones alimentarias estafilocócicas

Son causadas por la ingestión de enterotoxinas previamente elaboradas en el alimento contaminado con esta bacteria. La incubación es corta, de 1 a 6 horas, en general 3 horas después de la alimentación.

La enfermedad apirética presenta de inicio vómitos, más dolores abdominales, diarrea y a veces colapso cardiaco. La enterocolitis aguda estafilocócica post-antibiótica. Ella es excepcional.

### Fisiopatología

La aptitud patógena de una estafilococo, depende de numerosos factores de virulencia (exoenzimas, factores de atracción, actividades metabólicas, velocidad de multiplicación) y de la excreción de muchas toxinas proteicas. Se sabe también que las cepas aisladas de pacientes afectados de estafilococia poseen muchos factores y que son más frecuentes que aquellos que proceden de portadores sanos.

Es a nivel de la puerta de entrada de la infección donde uno observa los primeros signos inflamatorios seguidos rápidamente de fenómenos supurativos y necróticos.

A partir de este foco inicial, el proceso tiende a difundirse por invasión de las venas y la formación de una tromboflebitis, punto de origen posible de una septicemia con émbolos sépticos. En algunas circunstancias uno puede poner en relación la producción de una toxina particular y un síndrome clínico característico: estafilococia cutánea exfoliativaampollosa, intoxicación alimenticia, enterotoxina, SCTS y TSST – 1 (con algunas reservas en el último caso).

En el curso de otras estafilococias hay combinación y superposición de muchos factores de patogenicidad. Sin embargo en todos los casos los mecanismos que intervienen en el potencial de agresividad no están bien conocidos.

### Inmunidad

La frecuencia de portadores sanos en el hombre implica la existencia de una inmunidad natural eficaz.

La inmunidad celular es la más importante. Los factores que disminuyen la aptitud fagocitaria, bactericida de los polinucleares aumenta la receptividad del hospedador ciertos defectos adquiridos o hereditarios son bien conocidos (granulomatosis crónica familiar, síndrome de Job).

La inmunidad humoral juega un rol más discreto, salvo a ciertas toxinas (exfoliatina, enterotoxina, TSST-1).

La aparición de una enfermedad estafilocócica parece resultar de un desequilibrio entre el hospedador y el microbio. Numerosos factores de desequilibrios locales, y generales son conocidos: inoculación accidental de una gran número de bacterias, condiciones locales que frenan la llegada de células fagocitarias (escaras, esclerosis), estado de menor resistencia (factores nutricionales, enfermedades o tratamientos inmuno supresores).

## Epidemiología

El reservorio esencial del *S.aureus*, es el hombre mismo. De 30 a 50% de los sujetos sanos albergan al *S.aureus* a nivel de las fosas nasales, sin embargo también en la garganta, piel, manos, periné y en el intestino.

La transmisión puede ser directa a partir de estos reservorios y de todas las lesiones estafilocócicas abiertas, sobre todo cutáneas.

La transmisión indirecta es también posible en razón de la resistencia del en el medio *S.aureus* exterior, en el medio hospitalario, la vestimenta, la cama, los objetos usuales, el aire y el polvo en los ambientes, el material médico, pueden ser fuente de infección. Así pueden sobrevenir las epidemias (maternidad, orfanato, servicios de cirugía y de reanimación).

Las intoxicaciones alimentarias son observadas bajo la forma de epidemia que afecta a las personas que consumen el mismo alimento (restaurantes, cantinas).

La leche y los productos derivados no pasteurizados, las carnes y las salsas, las pastas, las conservas, son a menudo la causa del problema, cuando estos alimentos han sido contaminados por personal portador de estafilococos y conservados en éstas condiciones (ruptura de la cadena de frío) que han permitido a la bacteria multiplicarse y secretar su enterotoxina.

## Diagnóstico biológico

### - Diagnóstico directo

Es la base del diagnóstico biológico de las estafilococias las condiciones en las cuales es efectuada la toma de muestra tiene una gran importancia para la interpretación de los resultados: asepsia rigurosa, lugar y momento adecuadamente elegido, repetición del muestreo (hemocultivo).

Cuando es posible, el examen microscópico directo de la lesión, muestra los cocos gran positivos en racimos dando una indicación diagnóstica importante.

La certeza no es obtenida más que después del cultivo (que no es difícil) y la identificación de la cepa.

No es raro que cuando, en la interpretación de los resultados dentro de ciertas muestras (piel, mucosas) la presencia de *S.aureus* (tienen fuerte predominio en relación a otras especies del mismo género) y este no es obligatoriamente sinónimo de infección. Cuando hay una epidemia (intoxicación alimentaria, infección en un medio hospitalario), los marcadores de reconocimiento epidemiológico pueden ser útiles (serotipos, lisotipos, producción de toxinas). Esta investigación no es realizada más que por laboratorios especializados.

### - Diagnóstico indirecto

Es muy útil en las estafilococias profundas que se presentan mal al muestreo bacteriológico. Uno busca en el suero las antiestafilolisinas alfa (título  $> 0 = a 2$  UI/ml) y los anticuerpos anti ácidos teicoicos.

**Medidas de profilaxis**

La profilaxis reposa sobre la aplicación de medidas de asepsia y de higiene individual (tratamiento de lesiones que podrían representar una puerta de entrada a infecciones más graves) y colectiva (lucha contra la infección en los hospitales, vigilancia de las cocinas).

La antibiótico profilaxia debe ser excepcional y reservada para casos particulares (cirugía cardíaca y ortopédica).

**Elementos de terapéutica**

En el medio hospitalario la realización de un antibiograma es indispensable para la información sobre la frecuencia de cepas multi-resistentes. La situación de la sensibilidad del *S.aureus* a los antibióticos es la siguiente:

**Los betas lactámicos**

Las penicilinas G y A, son habitualmente inactivas (90% de las cepas producen las penicilinas).

Las penicilinas M (metecilina y oxacilina) no hidrolizadas por la penicilinas, tendrían la preferencia. Sin embargo de 10 a 20% de cepas en medio hospitalario son resistentes a las penicilinas (cepas *meti-R*). Estas cepas son igualmente resistentes a las cefalosporinas y a numerosas otras formulas de antibióticos.

Los aminoglicosidos.

La gentamicina, tobramicina, la metilmicina y la amikacina son bactericidas, sin embargo existe numerosas resistencias en las cepas *meti-R*.

**Macrolidos y antibioticos emparentados**

Estos antibióticos, bacteriostáticos, son muy utilizados en la práctica, en las infecciones de gravedad mediana. Las cepas *meti-R* son irregularmente sensibles a estos productos.

**Existencias de otros anti-staphylococcus**

El ácido fusídico, la rifampicina, fluoroquinolonas y sobre todo la vancomicina, que es un antibiótico activo sobre todas la cepas.

**Otras especies de Staphylococcus**

Muchas especies de *staphylococcus* (llamados estafilococoscoagulasa negativos por oposición a *S.aureus*) son patógenos para el hombre. La virulencia es menor a la del *S.aureus* ya que producen pocas toxinas. Estos estafilococos son bacterias oportunistas y causan infecciones tópidas, tenaces y graves donde el tratamiento a menudo es difícil.

Ciertas especies poseen la facultad de adherirse a los materiales plásticos de producción de "slime" (*S.epidermidis*) ellos son la causa de la colonización tenaz y de infección de catéteres y de prótesis vasculares y ortopédicas, de válvulas de derivación de LCR. Otro (*S. saprophyticus*) se puede adherir al epitelio vesical y provocar cistitis. La buena calidad del muestreo es esencial y la interpretación de los resultados bacteriológicos debe ser prudente y rigurosa. La presencia de signos clínicos y citológicos de infección, la repetición del aislamiento de la misma cepa, la ausencia de otras especies bacterianas, son argumentos a favor del rol patógeno de los estafilococos coagulasa negativos.

**Medidas de prevención**

La prevención de la aparición de brotes nosocomiales por *S.aureus*, se basa en medidas que incluyen tanto sistemas de promoción en salud (educación, difusión e información) y vigilancia epidemiológica como el cribado de portadores en el personal sanitario, medidas de aislamiento y control en caso necesario.

Las cepas de *S. aureus*, se introducen en el medio hospitalario a través de pacientes, visitantes o trabajadores sanitarios. El reservorio fundamental lo constituyen los pacientes ingresados que están infectados o colonizados, extendiéndose a otros pacientes principalmente por medio de las manos del personal sanitario (transmisión cruzada).

A medida que progresa un brote epidémico, aumenta el número de portadores nasales de *S. aureus* que constituye a menudo la propia fuente de infección. Ciertos pacientes - portadores nasales- se pueden descolonizar con la aplicación de una pomada tópica de mupirocina en ambas fosas nasales durante cinco días. Su uso indiscriminado ha ocasionado la aparición de resistencias a este antibiótico en numerosos hospitales.

Por cuyo motivo se recomienda la utilización de la mupirocina en portadores de *S. aureus* que trabajan en servicios de alto riesgo y para los portadores de *S. aureus* sensibles a meticilina la aplicación de medidas de protección con el objeto de evitar la diseminación de esta bacteria.

**Proceso de portación**

Un microorganismo patógeno puede colonizar transitoriamente al hombre y ser parte de su microbiota comensal.

En este caso se habla de una relación de portación donde el individuo se convierte en portador que consiste en una relación entre bacterias y el hombre, que se interpreta de acuerdo a un esquema dinámico que divide a la interacción en etapas:

- Encuentro
- Entrada
- Establecimiento
- Multiplicación
- Diseminación
- Daño
- Desenlace

El encuentro de una bacteria con el hombre depende de las características del microorganismo, lugar donde éste permanece en la naturaleza llamado reservorio y de las condiciones o mecanismos que pueden llevar al hombre a establecer contacto con la bacteria. El microorganismo puede encontrarse en un reservorio ambiental como suelos, agua u objetos inanimados; zoonótico que incluye mamíferos domésticos o silvestres y en el ser humano constituido en portador de la bacteria.

La entrada de la bacteria al huésped se realiza por medio de una vía de acceso que permite al microorganismo alcanzar una región del cuerpo humano. En tal región la bacteria debe lograr su establecimiento lo que generalmente implica la adherencia de la bacteria a un epitelio. Seguidamente las bacterias deben multiplicarse a expensas de los nutrientes que sean capaces de obtener del huésped, procediendo a su diseminación, ya sea a tejidos contiguos o hacia tejidos distantes, a través de las vías linfáticas o la circulación.

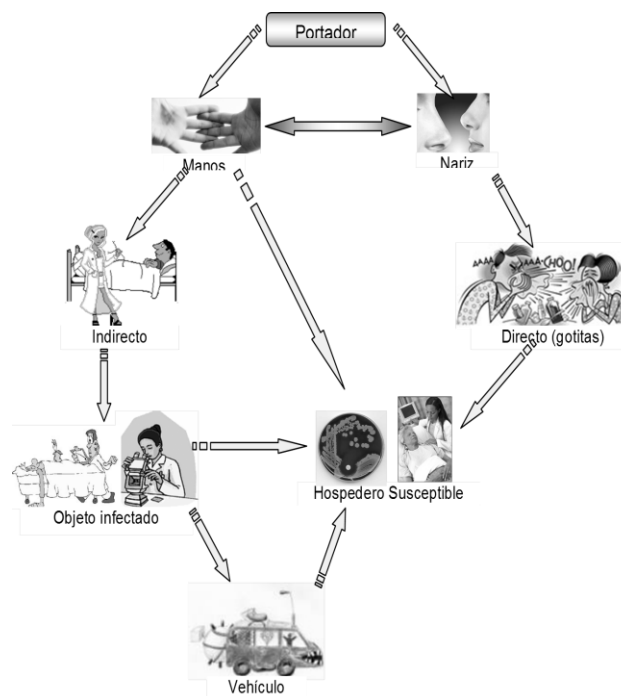
Mientras esto ocurre, el huésped no permanece pasivo, sino que pone en juego una serie de mecanismos de defensa. Aquellas bacterias que pueden evadir las defensas y que cuentan con factores de patogenicidad específicos terminaran por producir daño al individuo que desencadena en una enfermedad infecciosa provocando un desenlace que conduce a una de las siguientes situaciones:

El hospedero triunfa, la enfermedad se cura y la bacteria es erradicada.

La bacteria triunfa, llevando al huésped a la muerte o a un estado de enfermedad crónica.

Se alcanza una coexistencia de equilibrio entre el huésped y la bacteria, bajo la forma de una portación.

Sin embargo, los portadores se constituyen en agentes de transmisión de microorganismos patógenos a veces de manera persistente (que albergan al microorganismo patógeno durante mucho tiempo) o transitoria (que albergan al microorganismo por periodos cortos de tiempo). Intermitente periodos con portación y periodos sin el agente.



**Figura 2** Ruta de transmisión de *S. aureus*

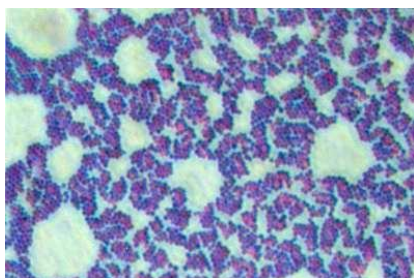
### Métodos de análisis clínicos microbiológicos para *S. aureus*

Para la detección del *Staphylococcus aureus* se realizan una serie de procedimientos en el laboratorio de bacteriología, entre los más importantes podemos citar:

#### Frotis directos teñidos con Gram

La tinción de Gram es uno de los primeros pasos que se realiza para la identificación bacteriana<sup>(1)</sup>.



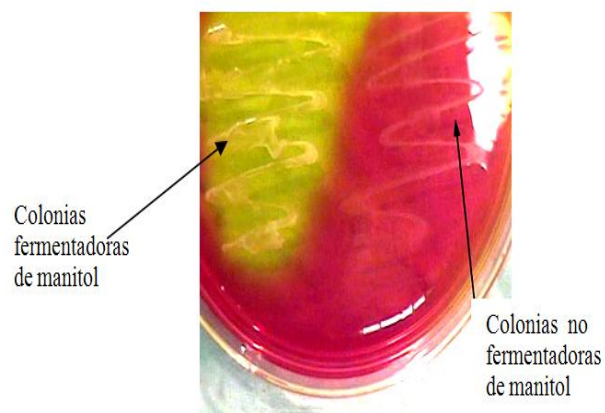


**Figura 3** S.aureus con tinción de Gram

Las células Micrococcaceae se dividen a lo largo de los planos longitudinal y horizontal; formando pares, tétradas y por último racimos irregulares. Las tinciones de Gram deben realizarse sobre cultivos recientes, porque las células muy viejas, pueden perder su capacidad para retener el violeta cristal y parecer Gram variables o Gram-negativas.

### Cultivo S.aureus

Se utilizan medios de cultivo selectivos para aislar Staphylococcus a partir de muestras clínicas. El agar manitol salado se usa habitualmente con este propósito. Este agar contiene una concentración alta de sal (10%), el azúcar manitol y rojo fenol como indicador de pH. En este medio, las bacterias S. aureus crecen en presencia de sal y fermentan el manitol, produciendo colonias rodeadas por un halo amarillo.



**Figura 4** Crecimiento de S.aureus en Agar manitol salado

### Condiciones y duración de la incubación

El desarrollo visible en agar con sangre de oveja al 5% y en agar chocolate, incubados a 35 °C en dióxido de carbono (3 – 5%) o atmósfera normal, habitualmente se produce dentro de las 24 Hrs. posteriores a la siembra. El agar manitol salado y otros medios de cultivo selectivos pueden requerir incubación por lo menos durante 48 a 72 Hrs. antes de detectar desarrollo.

Aspecto de las colonias.



**Figura 5** Actividad hemolítica del S. aureus en agar sangre

En el agar sangre el *S. aureus* desarrolla dando colonias medianas a grandes, lisas, ligeramente elevadas, translúcidas. La mayoría de las colonias presentan pigmento amarillo cremoso y generalmente son betahemolíticas; teniendo similar comportamiento en el medio de cultivo agar chocolate.

El *S. aureus* en agar manitol salado desarrolla colonias rodeadas por un halo amarillo. Sin embargo, otros *Staphylococcus* como el *S. saprophyticus* también puede fermentar el manitol y por lo tanto parecerse a *S. aureus* en este medio, siendo necesario para su diferenciación realizar pruebas de identificación.

## Pruebas de identificación

### Prueba de la catalasa

Los microorganismos de la familia Micrococcaceae se diferencian de la familia Streptococcaceae por la prueba de la catalasa. Mediante ésta se detecta la presencia de citocromooxidasas en la Micrococcaceae. La prueba se hace con peróxido de hidrógeno al 3% sobre un portaobjetos, la producción inmediata de burbujas indica la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso.



**Figura 6** Prueba de la catalasa

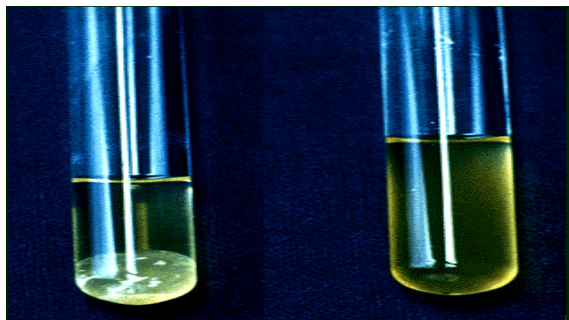
### Prueba de la coagulasa en portaobjetos

La mayoría de las cepas de *S. aureus* poseen una coagulasa unida o factor de agregación en la superficie de la pared celular, este factor reacciona directamente con el fibrinógeno presente en el plasma y produce una rápida aglutinación de las células bacterianas. La prueba puede llevarse a cabo con microorganismos provenientes de medios nutritivos no selectivos, pero no debe ser realizada a partir de medios con un alto contenido de sales (por ejemplo agar manitol salado) porque la sal hace que algunas cepas se aglutinen espontáneamente.

Cualquier cepa negativa a la prueba de la coagulasa en portaobjetos debe ser confirmada con una prueba de coagulasa en tubo, porque las cepas deficientes en factor de aglutinación habitualmente producen coagulasa libre<sup>(1)</sup>

### Prueba de la coagulasa en tubo

La coagulasa detectada por este método, es secretada en forma extracelular y reacciona con una sustancia presente en el plasma denominado “factor de reacción con la coagulasa” para formar un complejo que a su vez reacciona con el fibrinógeno para formar fibrina (formación de coágulo). Las pruebas negativas después de 4 horas de incubación a 35 °C deben ser mantenidas a temperatura ambiente y leídas nuevamente a las 18-24 horas, porque algunas cepas pueden producir fibrinolisininas por incubación prolongada a 35 °C, la que ocasiona la disolución del coágulo durante el período de incubación.<sup>(1)</sup>



**Figura 7** Prueba de la coagulasa

El medio recomendado para el procedimiento de la prueba de la coagulasa, tanto en portaobjetos como en tubo, es el plasma de conejo con el anticoagulante CITRATO. La prueba de la coagulasa en tubo sigue siendo el procedimiento de referencia más adecuado para la identificación de *S. aureus*.

### Fermentación del manitol

El *S. aureus* es capaz de fermentar el manitol. Esta propiedad se utiliza en los estudios epidemiológicos para detectar *S. aureus* en portadores nasales y de manos. El medio utilizado es el agar manitol con sal, contiene manitol (1%), ClNa al 7,5%, rojo fenol y peptonas.

La alta concentración de sales inhibe el desarrollo de otros microorganismos (excepto el enterococo) y recupera selectivamente *S. aureus*, puede ser detectado por la presencia de un halo amarillo alrededor de las colonias aisladas, que indica la producción de ácidos a partir del manitol<sup>1.(1)</sup>

### Pruebas de sensibilidad

#### Métodos de estudio de susceptibilidad antimicrobiana

Puede determinarse la susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias mediante los siguientes métodos:

- Difusión en disco
- E- Test
- Dilución

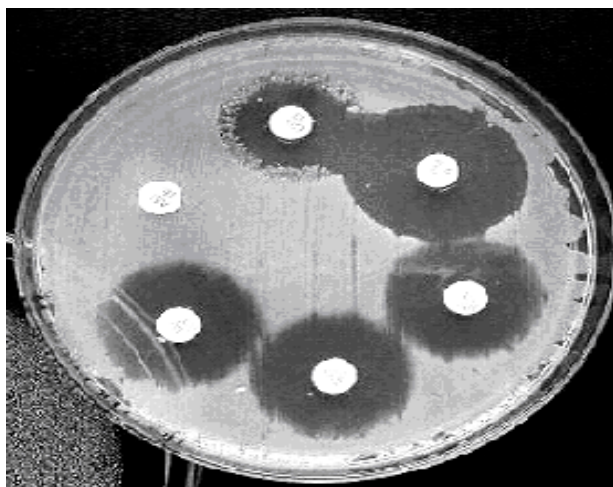
#### Difusión en agar(Método de Kirby-Bauer)

A partir de un cultivo puro, se prepara un inóculo suspendiendo 2-3 colonias en caldo MüellerHinton. Luego se ajusta la densidad a Mac Farlan 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml), se siembra en placa de agar con tórula en tres direcciones rotando la placa en  $60^\circ$  cada vez para formar un tapiz homogéneo.

Se colocan en forma ordenada los sensidiscos correspondientes según la cepa en estudio, con una pinza presionándolos suavemente sobre el agar. Incubar a  $35^\circ$  C en estufa de cultivo por 18-24 horas.

En la Lectura e Interpretación se miden los halos de inhibición de cada sensidisco con una regla y se registra la lectura en milímetros.

Se interpreta los resultados según las Normas del CLSI (Clinical And LaboratoryStandardsInstitute).<sup>(25)</sup> como: sensible, medianamente sensible y resistente.



**Figura 8** Antibiograma

### Métodos de sensibilidad por dilución

Se usan para determinar la concentración mínima exacta del antimicrobiano que inhibe el crecimiento (CIM) para un determinado microorganismo. Se realizan diluciones seriadas del antimicrobiano, se inoculan con microorganismos y se incuban. La CIM es la concentración más baja del antimicrobiano en la cuál no hay crecimiento microbiano aparente. Esta técnica se puede hacer en caldo o en agar.

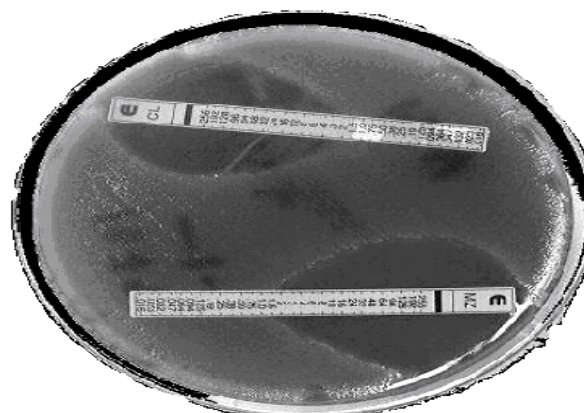
También puede confirmar susceptibilidad o resistencia en cepas que presentan sensibilidad intermedia por el método de difusión en agar o resultados variables por otros métodos.

### TEST

Epsilon Test, este método corresponde a una técnica cuantitativa (CIM), en el cuál se combinan los principios básicos de los métodos de estudio de susceptibilidad por difusión y dilución en agar antes mencionados.

En el E test el inóculo estandarizado es diseminado en una placa de agar para formar un césped homogéneo. Sobre este inóculo se deposita una tira impregnada en un gradiente de concentración del antimicrobiano a estudiar. El agente antimicrobiano difunde sobre el agar y la CIM corresponde al punto de intersección entre la inhibición del crecimiento bacteriano y la concentración del antimicrobiano. A partir de un cultivo puro, se prepara un inóculo suspendiendo 2-3 colonias en caldo MüllerHinton.

Luego se ajusta la densidad a Mac Farlan 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml), se siembra en placa de agar con tórula en tres direcciones rotando la placa en  $60^\circ$  cada vez para formar un tapiz homogéneo. Se coloca en forma ordenada los sensibilizadores correspondientes según la cepa en estudio, con una pinza presionándolos suavemente sobre el agar. Incubar a  $35^\circ$  C en estufa de cultivo por 18-24 horas<sup>(25)</sup>



**Figura 9** E-Test

## Marco operativo

### Introducción

El presente estudio fue realizado en el Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre, contando para el efecto con autorización expresa del Director de ese nosocomio.

La investigación tuvo un enfoque cuantitativo fijándose como objetivo principal establecer la portación de S.aureusen el personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen”.

### Métodos

#### Métodos Teóricos

#### Análisis y síntesis

Permitió descomponer, estudiar y facilitar la comprensión de los factores que intervienen en la problemática de la portación del S. aureus.

#### Bibliográfico

Para la construcción de las bases teóricas referidas al microorganismo y al proceso de portación de la bacteria en el personal de salud.

#### Estadística

Como respaldo científico a los resultados obtenidos en la investigación que valida el estudio realizado

## Métodos Empíricos

### Entrevista

A las autoridades y personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” para conocer los factores de reservorio o portadores del microorganismo patógeno.

### Observación

Se realizó una observación directa de las condiciones de atención a los pacientes en las diferentes áreas del Hospital y sobre las medidas de bioseguridad que adoptan el nosocomio y el personal de salud.

### Encuesta

Con la aplicación de un cuestionario al personal del salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” que permitió obtener información sobre algunos aspectos importantes de las peronas que prestan servicios en ese nosocomio, como edad, tiempo de trabajo, área de servicio, ocupación,etc.

### Instrumentos

Para la recolección de la información se diseño una tabla de registro de datos, además de una ficha de laboratorio. (Anexos 1 y 2)

### Muestra

La muestra obtenida es de93 personas del área de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen”de la ciudad de Sucre.

### Criterios de Inclusión

En el estudio se tomaron en cuenta al personal de salud que estuvo constituido por:

- Médico
- Enfermera
- Auxiliar Enfermera
- Bioquímica
- Técnico Superior
- Trabajadores Manuales

### Criterios de exclusión

Personal de salud que se desinfectó las manos 10 minutos antes de la toma de muestra.

Sujetos que en el momento de la toma de muestra tenían un proceso catarral agudo

Sujetos que estuvieran con tratamiento antimicrobiano.

### Recolección de la información.

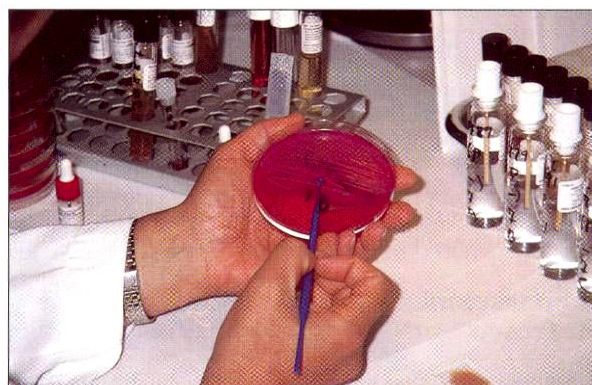
La información fue recogida de fuente primaria a través de la aplicación de un cuestionario (Anexo 3) mediante entrevista directa

Posteriormente, se procedió a la recolección de muestras, mediante la utilización de un hisopo para fosas nasales y para las manos por impronta en el medio de cultivo.

### Procesamiento de información

#### a) Procesamiento de Muestras en laboratorio

Para la detección de portadores de *S. aureus* en el personal de salud, se procedió a la toma de muestra de fosas nasales y de manos, de acuerdo a procedimientos laboratoriales recomendados por el INLASA, utilizando un hisopo estéril humedecido con solución fisiológica estéril 9 x 1000, luego las muestras fueron depositadas en el medio de transporte Stuart y trasladadas el mismo día de su recolección al laboratorio de Bacteriología “Luis Adam Briacon” dependiente de la Facultad de Ciencias Químico-Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad de San Francisco Xavier de Chuquisaca, lugar donde se procesaron todas las muestras. Posteriormente, se inoculó en agar manitol salado (Britania) y a continuación se incubaron las placas a 35 °C durante 72 horas.



**Figura 10** Procesamiento de la muestra en agar manitol.

Las muestras de manos se tomaron de los cinco dedos (pulpejos), por el método de impronta en placas de agar manitol salado (Britania). Todas las placas se incubaron a 35 °C durante 72 horas.

Posteriormente, se observaron los cultivos, considerándose a las colonias fermentadoras de manitol (amarillas) como positivas por ser sugerentes de *S. aureus*.

Con el objeto de realizar la identificación de cada aislamiento, se efectuó la tinción de Gram y en aquellas donde se observaron cocos Gram positivos se practicó la prueba de catalasa, sometiendo a la colonia positiva a la resiembra en el medio de cultivo caldo cerebro corazón para obtener un inóculo de 24 horas a 37°C a partir de ese crecimiento microbiano se realizó la prueba de la coagulasa en tubo para identificar al *S. aureus*, siendo positivo si se forma un coagulo, de acuerdo al Manual de Procedimientos para el Aislamiento e Identificación de *S. aureus* del INLASA.

Las cepas identificadas de *S. aureus*, fueron utilizadas para realizar el antibiograma mediante el método de Kirby- Bauer, según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2008<sup>(25)</sup>. Los antibióticos ensayados fueron: oxacilina (1 µg), cefoxitina (30 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg) cloranfenicol (30 µg) y vancomicina (30 µg) (Laboratorio Britania-Argentina). La caracterización fenotípica de la resistencia a macrólidos se hizo mediante la prueba de doble disco, eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg).

Luego se realizó la interpretación de los antibiogramas a través de la aplicación de normas CLSI 2008 para determinar la sensibilidad del *S. aureus* a los antimicrobianos arriba señalados.

### Control de calidad

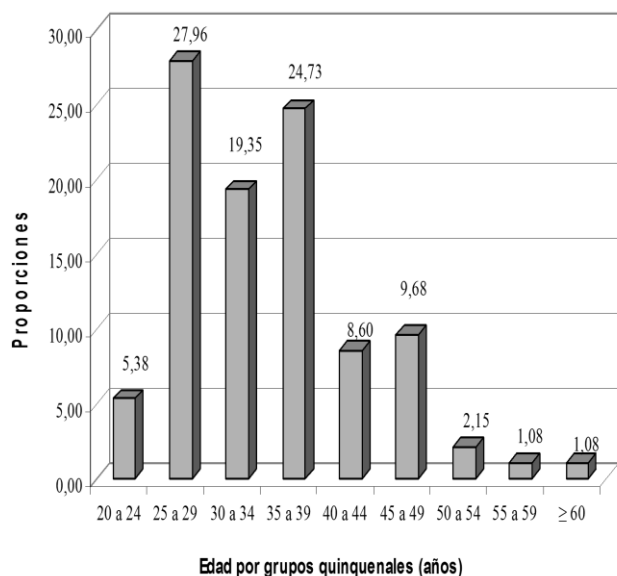
Para el control de calidad de las pruebas se utilizaron las cepas *S. aureus* ATCC 29213 (susceptible a OX) y *S. aureus* ATCC 43300 (resistente a OX).

### Resultados

#### Descriptivos Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen”

Grupo de Edad (años)	Frecuencias	
	Nº	%
20 a 24	5	5,38
25 a 29	26	27,96
30 a 34	18	19,35
35 a 39	23	24,73
40 a 44	8	8,60
45 a 49	9	9,68
50 a 54	2	2,15
55 a 59	1	1,08
≥ 60	1	1,08
Total	93	100,00

**Tabla 5** Frecuencias por grupos de edad del personal de salud del Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

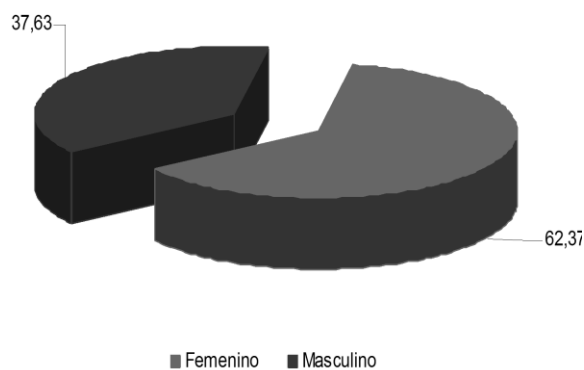


**Grafico 1** Frecuencias por grupos de edad del personal de salud del Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen.” de Sucre. Primer semestre 2008

Conocer la portación de *S. aureus* en el personal que presta servicios en ese nosocomio, se registró la mayor frecuencia de participantes en el grupo de edad de 25-29 años con un 27,96% (26); en segundo lugar el grupo de edad de 35-39 años con una frecuencia de 24,73% (23), por el contrario la menor frecuencia de participantes se registró en los grupos de 55 a 59 años y  $\geq$  a 60 años con una frecuencia de 1,08% (1) de cada uno de ellos.

Sexo	Frecuencia	
	N°	%
Femenino	58	62,37
Masculino	35	37,63
Total	93	100,00

**Tabla 6** Frecuencias por sexo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008



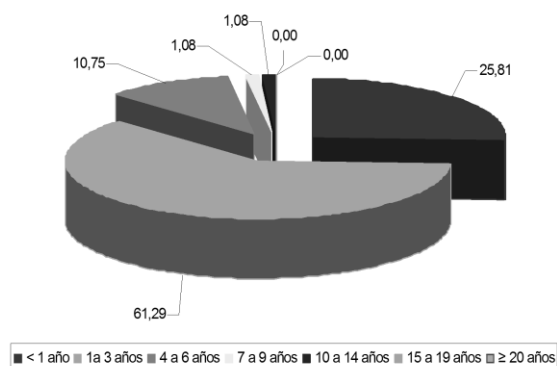
**Grafico 2** Frecuencias por sexo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

En el estudio se identificó el predominio del sexo femenino con una frecuencia de 62,37% (58), mientras que en el sexo masculino la frecuencia fue de 37,63% (35).

Tiempo de Trabajo	Frecuencias	
	N°	%
< 1 año	24	25,81
1 a 3 años	57	61,29
4 a 6 años	10	10,75
7 a 9 años	1	1,08
10 a 14 años	1	1,08
15 a 19 años	0	0,00
$\geq$ 20 años	0	0,00
Total	93	100,00

**Tabla 7** Frecuencias por tiempo de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón Böel Villadsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008



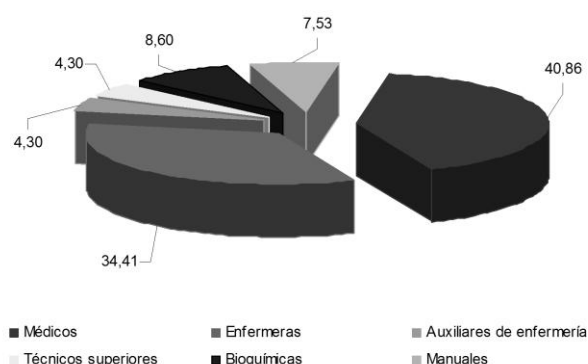


**Gráfico 3** Frecuencias por tiempo de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

Con la finalidad de conocer el tiempo de trabajo del personal que presta servicios en el Hospital Universitario Antón Böel Villadsen., se registró una frecuencia de 61,29% (57) para el personal cuyo tiempo de trabajo comprendió entre 1 a 3 años; 25,81% (24) < a 1 año y una menor frecuencia en los grupos de 7 a 9 y de 10 a 14 años con un porcentaje de 1,08% con 1 trabajador para cada uno de ellos.

Ocupación	Frecuencias	
	N°	%
Médicos	38	40,86
Enfermeras	32	34,41
Auxiliares de enfermería	4	4,30
Bioquímicas	4	4,30
Técnicos superiores	8	8,60
Manuales	7	7,53
Total	93	100,00

**Tabla 8** Frecuencias por ocupación del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

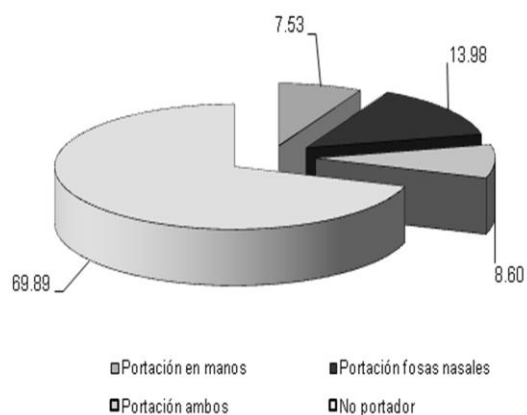


**Gráfico 4** Frecuencias por ocupación del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

En el estudio realizado en el hospital Universitario Antón Böel Villadsen, con la finalidad de conocer la ocupación del personal que presta servicios en ese nosocomio, se registró la mayor frecuencia de médicos 40,86% (38); en segundo lugar se ubica el grupo de enfermeras con 34,41% (32) y con una menor frecuencia a las bioquímicas y enfermeras auxiliares con un porcentaje del 4,30% (4) respectivamente.

Diagnóstico Portación	Frecuencia	
	N°	%
Portación en manos	7	7,53
Portación fosas nasales	13	13,98
Portación ambos	8	8,60
No portación	65	69,89
Total	93	100,00

**Tabla 9** Frecuencias de portación del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

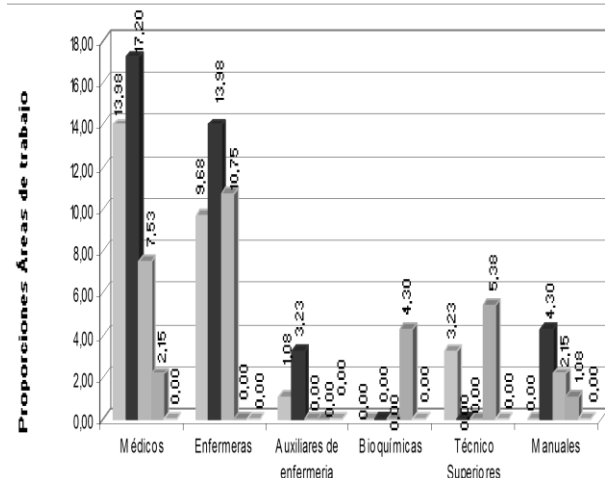


**Gráfico 5** Frecuencias según diagnóstico de portación del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

Con referencia a la frecuencia de portación de *S. aureus* en fosas nasales en el personal del Hospital Universitario Antón Böel Villadsen, se registró una frecuencia del 13,98% (13) casos positivos, en manos 7,53% (7) y en ambos sitios anatómicos 8,60% (8) frente a 69,89% (65) casos negativos.

Nº	Área de servicio	Medicina General				Cirugía				Pediatria				Diagnóstico				Pensionados				Total	
		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Frecuencia		Nº	%		
1	Médicos	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
1	Médicos	13	13,98	16	17,20	7	7,53	2	2,15	0	0,00	38	40,86										
2	Enfermeras	9	9,68	13	13,98	10	10,75	0	0,00	0	0,00	32	34,41										
3	Auxiliares de enfermería	1	1,08	3	3,23	0	0,00	0	0,00	0	0,00	4	4,30										
4	Bioquímicas	0	0,00	0	0,00	0	0,00	4	4,30	0	0,00	4	4,30										
5	Técnico Superiores	3	3,23	0	0,00	0	0,00	5	5,38	0	0,00	8	8,60										
6	Manuales	0	0,00	4	4,30	2	2,15	1	1,08	0	0,00	7	7,53										
	Total	26	27,96	36	38,71	19	20,43	12	12,90	0	0,00	93,00	100,00										

**Tabla 10** Frecuencia por área de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario



Según el área de trabajo se reportó en orden de frecuencia: Cirugía 38,71 (36), Medicina General 27,96% (26), Pediatría 20,43% (19) y Diagnóstico 12,90% (12) y con referencia a la ocupación en cuanto a frecuencia los médicos se encuentran en primer lugar con un 40,86% (38), en segundo lugar las enfermeras 34,41% (32) y una menor frecuencia en auxiliares de enfermería y bioquímicas con 4,30% (4) cada una de ellas.

### Susceptibilidad antimicrobiana

Los estudios de portación se caracterizan porque permiten conocer la distribución del evento en estudio en un determinado contexto, en función a las tres variables epidemiológicas: tiempo, persona y lugar. En el caso particular de la susceptibilidad antimicrobiana que ha sido planteada como un objetivo específico en el presente estudio, se consideraron únicamente a 28 muestras positivas para *S. aureus*, excluyéndose las muestras que dieron resultado negativo, en virtud a que éstas diluirían la información referida a la susceptibilidad antimicrobiana.

Antibióticos	Sensibles		Resistentes		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Oxacilina	28	100,00	0	0,00	28	100,00
Cefoxitina	28	100,00	0	0,00	28	100,00
Eritromicina	25	89,29	3	10,71	28	100,00
Clindamicina	27	96,43	1	3,57	28	100,00
Vancomicina	28	100,00	0	0,00	28	100,00
Tetraciclina	27	96,43	1	3,57	28	100,00
Cloranfenicol	28	100,00	0	0,00	28	100,00
Ciprofloxacina	28	100,00	0	0,00	28	100,00
Gentamicina	27	96,43	1	3,57	28	100,00

**Tabla 11** Susceptibilidad del *S. aureus* a diferentes antibióticos Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

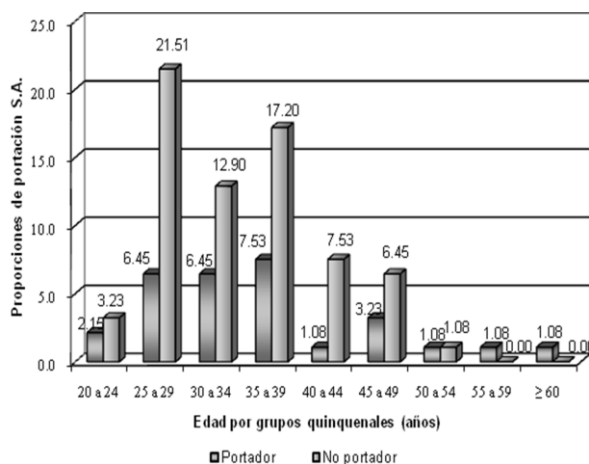
Los resultados fueron los siguientes: Sensible el 100% a la Oxacilina, Cefoxitina, Vancomicina, Cloranfenicol y Ciprofloxacina; el 96,43% a la Clindamicina, Tetraciclina y Gentamicina y el 89,29% a la Eritromicina. Resistente 10,71% a la Eritromicina y el 3,57% a la Clindamicina, Tetraciclina y Gentamicina.

## Bivariante

### Hospital Universitario Antón BöelVilladsen

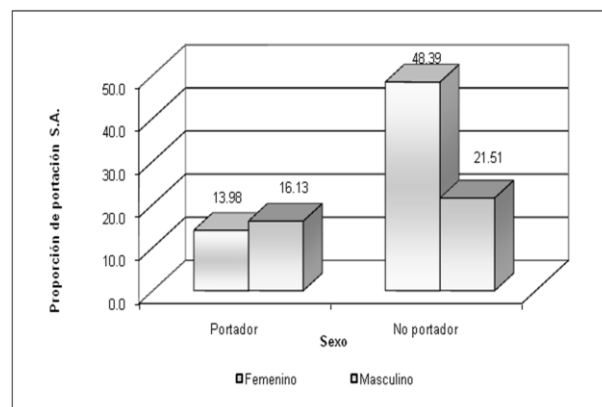
Grupo de Edades (años)	Portación				Total	
	Portador		No Portador		N°	%
	N°	%	N°	%		
20 a 24	2	2,15	3	3,23	5	5,38
25 a 29	6	6,45	20	21,51	26	27,96
30 a 34	6	6,45	12	12,90	18	19,35
35 a 39	7	7,53	16	17,20	23	24,73
40 a 44	1	1,08	7	7,53	8	8,60
45 a 49	3	3,23	6	6,45	9	9,68
50 a 54	1	1,08	1	1,08	2	2,15
55 a 59	1	1,08	0	0,00	1	1,08
≥ 60	1	1,08	0	0,00	1	1,08
Total	28	30,11	65	69,89	93	100,00

**Tabla 12** Portación de *S. aureus* según grupo de edades del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008



**Gráfico 6** Portación de *S. aureus* según grupo de edades del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

Se presentó una mayor portación del *S. aureus* en el grupo etáreo comprendido de 35 a 39 años con un 7,53% (7) y una menor portación en los grupos comprendidos entre 40 a 44 años, 50 a 54 años, 55 a 59 años y  $\geq$  a 60 años con 1,08%(1) para cada uno de ellos. Con relación a no portadores de *S. aureus* se tuvo una mayor frecuencia en el grupo etario de 25 a 29 años con 21,51%(20) y no se registro ningún caso negativo en los grupos comprendidos de 55 a 59 y  $\geq$  a 60 años



**Gráfico 7** Portación de *S. aureus* según sexo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

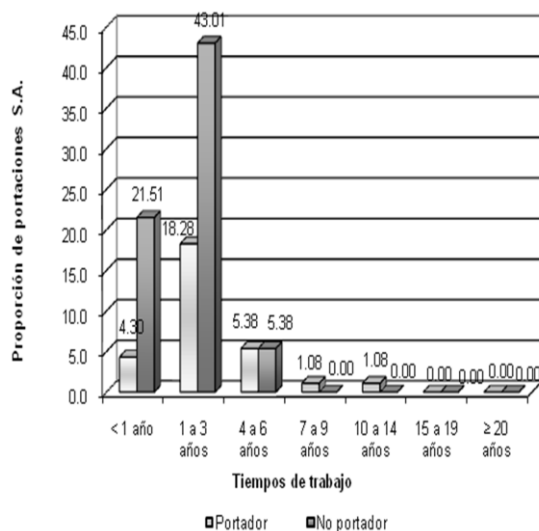
La mayor frecuencia de portación de *S. aureus* según sexo se presentó en el grupo masculino con 16,13% (15) y una menor frecuencia en el sexo femenino con 13,98%(13) y con referencia a la no portación la mayor frecuencia se presentó en el sexo femenino 48,39% (45) y una menor frecuencia en el sexo masculino con 21,51% (20).

Sexo	Portación				Total	
	Portador		No portador			
	N°	%	N°	%	N°	%
Femenino	13	13,98	45	48,39	58	62,37
Masculino	15	16,13	20	21,51	35	37,63
Total	28	30,11	65	69,89	93	100,00

**Tabla 13** Portación de *S. aureus* según sexo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

Tiempo de Trabajo (años)	Portación				Total	
	Portador		No Portador			
	N°	%	N°	%	N°	%
< 1 año	4	4,30	20	21,51	24	25,81
1 a 3 años	17	18,28	40	43,01	57	61,29
4 a 6 años	5	5,38	5	5,38	10	10,75
7 a 9 años	1	1,08	0	0,00	1	1,08
10 a 14 años	1	1,08	0	0,00	1	1,08
15 a 19 años	0	0,00	0	0,00	0	0,00
≥ 20 años	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	28	30,11	65	69,89	93	100,00

**Tabla 14** Portación de *S. aureus* según tiempo de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

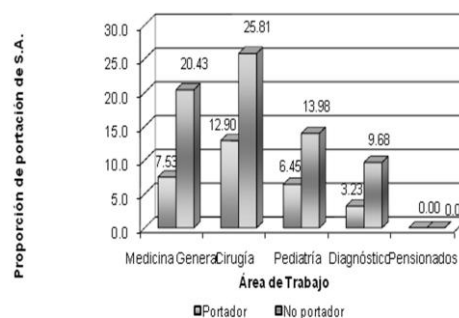


**Gráfico 8** Portación de *S. aureus* según tiempo de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

La mayor frecuencia de portación de *S. aureus* según tiempo de trabajo se presentó entre los trabajadores que prestan servicios entre 1 a 3 años con 18,28%(17) y la menor frecuencia en los grupos comprendidos de 7 a 9 años y de 10 a 14 años con 1,08% (1) en cada grupo. Con relación a la no portación la mayor frecuencia fue en el grupo comprendido de 1 a 3 años con 43,01%(40) y no se presentaron casos negativos en los grupos comprendidos de 7 a 9 años y de 10 a 14 años.

Área de Trabajo	de Portación				Total	
	Portador		No Portador		N°	%
	N°	%	N°	%	N°	%
Medicina General	7	7,53	19	20,43	26	27,96
Cirugía	12	12,90	24	25,81	36	38,71
Pediatría	6	6,45	13	13,98	19	20,43
Diagnóstico	3	3,23	9	9,68	12	12,90
Pensionados	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total	28	30,11	65	69,89	93	100,00

**Tabla 15** Portación de *S. aureus* por área de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

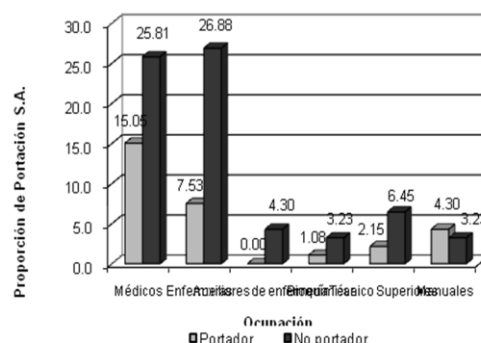


**Gráfico 9** Portación de *S. aureus* por área de trabajo del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008

Según el área de trabajo la mayor frecuencia de portación del *S. aureus* se presentó en Cirugía con 12,90% (12) y menor frecuencia en el área de diagnóstico con 3,23%(3) y con relación a la no portación se tuvo una mayor frecuencia en el área de Cirugía con 25,81%(24) y menor frecuencia en el área de diagnóstico con 9,68% (9)

Ocupación	Portación				Total	
	Portador		No Portador			
	N°	%	N°	%	N°	%
Médicos	14	15,05	24	25,81	38	40,86
Enfermeras	7	7,53	25	26,88	32	34,41
Auxiliares de enfermería	0	0,00	4	4,30	4	4,30
Bioquímicas	1	1,08	3	3,23	4	4,30
Técnico Superiores	2	2,15	6	6,45	8	8,60
Manuales	4	4,30	3	3,23	7	7,53
TOTAL	28	30,11	65	69,89	93	100,00

**Tabla 16** Portación de *S. aureus* según ocupación del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre 2008



**Gráfico 10** Portación de *S. aureus* según ocupación del personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen” de la ciudad de Sucre. Primer semestre

Según la ocupación la portación de *S. aureus* tuvo una mayor frecuencia en el grupo de los médicos con 15,05% (14) y no se registro ningún caso positivo en el grupo de enfermeras. Con relación a la no portación la mayor frecuencia se presentó en las enfermeras con 26,88% (25) y menor frecuencia en bioquímicos y manuales con 3,23% (3) para cada grupo.

## Análisis y discusión de resultados

### Edad

En este servicio de salud la variable edad presenta la mayor prevalencia de portación de *S.aureus* en el grupo de edad de 35 – 39 años con un porcentaje del 7,53%, luego se ubica el grupo de edad 25 a 29 años con un 6,45% sugiere que estos grupos de edad probablemente sean un factor predisponente para la portación de *S.aureus*.

La edad constituye un factor predisponente de portación de *S.aureus* en este Hospital en los grupos etareos comprendidos de 35--39 y de 25-29 años de edad.

## Sexo

La portación de S.aureus, en el sexo masculino presenta una mayor portación alcanzando el 16,13% en relación al sexo femenino con 13,98%. Por tanto, según este indicador es probable que el sexo masculino sea factor predisponente para la portación de S.aureus, confirmándose en el estudio realizado en este nosocomio que existe predominio del sexo masculino como portador de S.aureuscon relación al femenino.

## Tiempo de trabajo

El tiempo de trabajo en este servicio, puede ser considerado como una variable que muestra una distribución simétrica presentando la máxima prevalencia de portación en las categorías de 1 a 3 años con 18,28% seguido de 4 y 6 años con 5,38%.

## Área de trabajo

En las áreas de trabajo que se presentaron mayor portación de S.aureus en el personal de salud fueron Cirugía con 12,90%, Medicina General 7,53% y Pediatría 6,45% .Las áreas de Cirugía, Medicina General yPediatría constituyen un factor predisponente para la portación de S. aureus debido que en las áreas de Cirugía y Medicina se practican técnicas invasivas permitiendo la salida del microorganismo y el área de pediatría se debe que los niños son fácilmente colonizados por S. aureus.

## Ocupación

En cuanto a la ocupación o especialidad de desempeño en este servicio de salud presentan una mayor portación los médicos con un 15,05% seguido de enfermeras con un 7,53% y del personal manual con un 4,30%.

Esta situación se explica debido a que los médicos y enfermerastienen contacto directo con pacientes y el personal manual seguramente por no adoptar las medidas de protección en el desarrollo habitual de sus actividades.

## Conclusiones

En el estudio se logró establecer la existencia de portación del S.aureus en el personal de salud del Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen”. : En el primer semestre de la gestión 2008 en el Hospital Universitario “Antón BöelVilladsen”de la ciudad de Sucre, se identificaron en el personal de salud a 28 portadores de S. aureusde una población de 93 trabajadores, representando un 30,11%, frecuencia similar a la establecida a nivel mundial (20 al 40%).<sup>1</sup>En la población portadora se estableció que el grupo etáreo que presenta una mayor prevalencia de portación de S. aureus es el comprendido entre 35 a 39 años con un porcentaje del 7,53 % (7 personas). En cuanto a la procedencia de la muestra (sitio anatómico), se identificaron en el personal de salud a 28 portadores de S. aureus de una población de 93, en el Hospital “Antón BöelVilladsen“,en fosas nasales 13,98% (13 personas), en manos 7,53% (7 personas) y ambos 8,60% (8 personas) y la no portación 69,89% de un total de 100%.En cuanto al sexo existe una mayor portación del masculino con un 16,13% considerando que de 93 muestras se registraron 15 casos positivos y en el sexo femenino la portación alcanzó al 13,98% de un total de población de 93 se registraron 13 casos positivos.

Es decir, que de cada mujer portadora existen 1,15 hombres portadores. En lo que respecta al tiempo de trabajo, se presentó una mayor portación de las personas que prestan servicios de 1 a 3 años con un 18,28% (17 casos) seguido de 4 a 6 años con un 5,38% (5 casos). En el área de trabajo, las mayores portaciones se presentaron en cirugía con 12,90% (12 casos) seguido de medicina general con 7,53% (7 casos) y pediatría con 6,45% (6 casos), coincidiendo estos datos con las frecuencias establecidos a nivel mundial. En cuanto a la ocupación los médicos y enfermeras presentaron una mayor portación del 15,05% (14 casos) y 7,53% (7 casos) respectivamente. En las pruebas de susceptibilidad bacteriana de las 28 cepas positivas para *S.aureus*, fueron sensibles a la vancomicina y cloranfenicol el 100% (28), a la ciprofloxacina 100% (28), a la gentamicina 96,43%(27), a la oxacilina, cefoxitina y clindamicina 100% (28), a la tetraciclina 93,43%(27) y a la eritromicina 89,29%(25). Las cepas fueron resistentes a eritromicina 10,71%(3), tetraciclina 3,57%(1), oxacilina, cefoxitina, ciprofloxacina y clindamicina 00,0% (0), y a la gentamicina 3,57% (1).

### Agradecimiento

Los investigadores agradecen a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

### Recomendaciones

Al Director del Hospital Universitario “Antón BøelVilladsen.” para que en función de los resultados que arrojó el presente estudio y en coordinación con el Comité de Infecciones Intrahospitalarias, adopten medidas de bioseguridad recomendadas por la OPS y exijan el cumplimiento de normas de prevención para evitar infecciones hospitalarias producidas por *S.aureus*.

Al personal de salud cuyos resultados fueron positivos como portadores *S.aureus* adopte las medidas necesarias para evitar la diseminación del microorganismo y someterse al correspondiente tratamiento y a un riguroso seguimiento de su condición de reservorio.

Al director del hospital en estudio, con el objeto de que instruya la realización de análisis microbiológicos -cada seis meses- del personal de salud bajo su dependencia, para efectuar un riguroso control y seguimiento sobre portación de *S.aureus*.

Al hospital involucrado en el estudio para que en coordinación con el Comité de Infecciones Nosocomiales planifiquen y desarrollen la promoción en salud que comprende educación, información a la comunidad y difusión, sobre normas de bioseguridad y sobre los riesgos de constituirse en portadores de *S.aureus*.

### Referencias

Avalos AM., Vázquez Vázquez LE., Chang Neyra J. Análisis de la Situación de las IIH en Perú. 1999- 2000. <http://www.oge.sld.pe/pe/vigil/análisis> de situación



Avril Jean Louo, Dabernat Henry, Denis Francois, Bacteriología Clínica. Paris – Francia. 1998. Editorial Ellipses.

Boletín Memoria Bodas de Plata del Proyecto Sucre Ciudad Universitaria. Sucre -2008

Castellano M, Bermúdez EJ, Perozo MA, Molina CL, Socorro B, Perez MM. Staphylococcus aureus estado de portador en personal de enfermería y patrones de susceptibilidad antimicrobiana. Rev Soc Ven Microbiol 2005; 25:72-8.

Constitución Política del Estado de Bolivia (CPE). Art. 200.

Cordiés LJ, Machado LAR, Hamilton MLC. “Principios generales de la terapéutica antimicrobiana”. Acta Médica. 2000;8(1):13-27.

Dirección Hospital Universitario “Dr. Antón Böel Villadsen”. Sucre-Bolivia 2008.

E.J. Perea Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. Barcelona-España. Editorial Doyma 2001.

G. L. Daguet. Técnicas de Bacteriología. Barcelona-España. Editorial JIMS. 1997.

Gallego Belisario. “Staphylococcus aureus: pasado, presente y futuro”. Caracas-Venezuela. VII Congreso Venezolano de Infectología - Octubre de 2006. Pág. 2

Ibarra Fernández Antonio. Tratado de Enfermería en Cuidados Críticos Pediátricos y Neonatales. Andalucía-España. Ed. 2007.

INLASA. Manual de técnicas de laboratorio. 2007. p. 58

J.A. García Rodríguez, J.J Picazo. Harcourt Brace Microbiología Médica. Barcelona- España. Editorial Doyma. 2002.

Koneman W, Elmer. Diagnóstico Microbiológico. Barcelona-España. 6ta ed. Editorial Médica Panamericana. 2008.

Landaeta JM. Estafilococos coagulasa-negativos: una aproximación microbiológica. Bol Soc Ven Micr 1998; 18(2): 71-8.)

Levinson Warren, Microbiología e Inmunología Médicas. Madrid-España. 8va. Edición. Editorial McGraw –Hill Interamericana. 2006.

Ley de Municipalidades de la República de Bolivia N° 2028 de 28 de octubre de 1999. Art. 4to.

Morejón MG, Salup DR, Cué BM. “Nuevos antimicrobianos”. Rev Cubana Farm 2003; 37 n.2.

Página Web. El Mundo es Salud. Madrid – España. 2007

Página Web. Informativo Latinoamericano de Enfermería. 2006.

Página Web. Instituto Nacional de Estadísticas de Bolivia (INE) [www.ine.gov.bo](http://www.ine.gov.bo)

Prescott ML, Harley JP y Klein DA. Microbiología. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 1999.

Revista del Sistema Europeo de Vigilancia Antimicrobiana. 2004.

Romero Cabello Raúl. Microbiología y Parasitología Humana. México: Editorial Médica Panamericana, 2007. -3ª edición-p. 693.

Romero Vanegas, Roxana. Factores Asociados a Infecciones Nosocomiales en el Servicio de Neonatología del Hospital Fernando Vélez Paiz durante el Periodo Junio-Noviembre del 2004. Managua-Nicaragua.

Sader HS, Jones RN. “Resistencia a los antimicrobianos de los agentes patógenos causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias en América Latina“. Resistencia antimicrobiana en las Américas: magnitud del problema y su contención. Washington, DC: OPS; 2000;p.54-73.

Selva C. Manual de Normas y procedimientos de aseo y limpieza en el Hospital. La Paz (Bolivia) Hospital de Clínicas 2000.

Sordelli D.O, Cerquetti –M., Catalano M. Bacteriología Médica. Buenos Aires-Argentina. Librería de la Ciencias. 1ra.Edición. 2004.

Ulloa F MT, Carmi K, Varela C, Fica A “Comparacion de reaccion de polimerasa en cadena, latex y antibiograma para detección de Staphylococcus aureus meticilina resistente“. Rev. Chile Infectol 2001

Velazco E, Nieves B, Araque M, Calderas Z. Epidemiología de infecciones nosocomiales por Staphylococcus aureus en una unidad de alto riesgo neonatal. Enferm Infect Microbiol Clin 2002; 20: 321-5.

## Prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al “Hospital Jaime Mendoza” Sucre, Enero - Agosto del 2009

ATALAY-Reina † & MORALES-Luz

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence N° 51, Sucre- Bolivia.*

Recibido 15 de Enero, 2014; Aceptado 25 de Junio, 2014

### Resumen

La falta de información sobre micosis oral en personas de edad avanzada en Bolivia es una de las razones de esta investigación. Thi infecciones por hongos debido a factores de los pacientes ancianos predisponentes entre incluida la mala nutrición, hábitos orales precarias, una mala situación socioeconómica, los cambios fisiológicos y defensas fajas cuerpo y esto se suma la edad avanzada en la que son estos pacientes son factores predisponentes a ser conseguir que las infecciones amables.

### Adulto mayor, candidiasis, Bolivia

### Abstract

The lack of information regarding oral mycosis in elderly people in Bolivia is one of the reasons for this research. Thi fungal infections due to predisposing factors of elderly patients between including poor nutrition , precarious oral habits , poor socioeconomic status, physiological changes and defenses girdles body and this adds advanced age in which are these patients are predisposing factors to be getting that kind infections.

### Elderly people, candidiasis, Bolivia

**Citación:** ATALAY Reina, & MORALES Luz. Prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al “Hospital Jaime Mendoza” Sucre, Enero - Agosto del 2009. Revista de Energía Química y Física 2014, 1-1:179-208

† Investigador contribuyendo como primer autor

**Introducción**

Hasta hace un par de décadas, El diagnóstico micológico que se desarrollaba en la mayoría de los laboratorios de Microbiología de nuestro país estaba relacionado con las micosis superficiales (tiñas, infecciones cutáneo - mucosas, etc.), por lo que la Micología era una ciencia escasamente desarrollada dentro del contexto de la Microbiología general.

El comienzo de la pandemia del SIDA en los años ochenta cambió sustancialmente esta realidad al favorecer la aparición de micosis sistémicas poco habituales hasta entonces (meningitis criptocócicas, candidiasis invasoras, candidiasis mucocutáneas rebeldes al tratamiento, etc.). el que ha afectado notablemente el número de enfermos con factores de riesgo para contraer una infección fúngica invasora.

Este nuevo escenario, donde las micosis profundas son una de las principales causas de morbimortalidad en los enfermos inmunodeprimidos, ha obligado a un proceso de adaptación y aprendizaje por parte de los microbiólogos clínicos para dar respuesta a esta situación, cuyos instrumentos diagnósticos difieren mucho de los empleados habitualmente en Bacteriología.

Día a día las situaciones clínicas exigen una mayor precisión y rapidez en el diagnóstico micológico. Además, el aislamiento de géneros o especies fúngicas resistentes a determinados antifúngicos y el desarrollo de resistencias por especies previamente sensibles, obliga a la realización de pruebas de sensibilidad in vitro a la mayoría de los agentes etiológicos de micosis invasoras aislados en el laboratorio.<sup>(1)</sup>

El comportamiento, mala nutrición y los hábitos higiénicos de las personas de la tercera edad juegan unos papeles muy importantes en la frecuencia de aparición de los procesos arriba referidos, por esta razón se realiza el presente estudio.

**Planteamiento del problema**

Sobre la base de los antecedentes anteriormente mencionados se identifica y se plantea en forma de pregunta el problema: ¿Cuál es la prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza; Sucre Enero – agosto 2009?.

La prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al “Hospital Jaime Mendoza” está representado por las alteraciones manifestadas en la micología de la mucosa bucal.

**Objetivo general**

Determinar la prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza Enero – Agosto 2009.

**Objetivos específicos**

Determinar la edad promedio de los pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza.

Indagar sobre los hábitos alimenticios de los pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al hospital Jaime Mendoza.

Determinar la situación socio – económica de los pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al hospital Jaime Mendoza.

Identificar el grado de instrucción de los pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza.

Identificar la frecuencia de higiene bucal de los pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al hospital Jaime Mendoza.

Evidenciar mediante el análisis laboratorial la presencia o ausencia de hongos en los pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al hospital Jaime Mendoza.

La Candidiasis bucal, infección oportunista o también llamada micosis, es causada principalmente por *Candida albicans*, es de gran importancia estomatológica, por su frecuencia y variedad clínica, estas infecciones se observan frecuentemente en personas con distintos tipos de factores predisponentes que facilitan el paso de *Candida* de comensal a patógeno.

Entre los factores predisponentes que pueden contribuir a la aparición de la candidiasis bucal esta; la deficiente nutrición, los precarios hábitos de higiene bucal, los cambios fisiológicos y las bajas defensas propias de los pacientes de la tercera edad.

### **Justificación**

El proceso de investigación que se propone servirá para evidenciar alteraciones en la cavidad bucal causada por hongos del tipo *Candida albicans* en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto 2009 en la ciudad de Sucre.

La incidencia de infecciones invasoras causadas por *Candida* ha aumentado en forma importante en las últimas décadas como consecuencia del aumento de poblaciones de mayor riesgo como son las personas de la tercera edad.

La candidiasis bucal forman parte del grupo de las enfermedades más frecuentes que afectan al hombre e incluso se puede afirmar que prácticamente todos los hombres a lo largo de su vida la padecerán alguna vez.

En los pacientes de la tercera edad se observa; una disminución fisiológica de la producción salival, unido a una serie de condiciones que favorecen la aparición de este hongo, como son: la pérdida de la dimensión vertical por el desgaste de sus dientes naturales o por el desgaste de los artificiales, así como su pérdida, que facilita un babeo comisural y una retención salival, excelente caldo de cultivo de los hongos. Según Lockhart y otros, la colonización de la cavidad bucal por *Candida* se incrementa en los pacientes de la tercera edad por la mayor predisposición que estos presentan.

Los resultados que se obtengan en el presente estudio servirán para marcar un referente epidemiológico en la valoración de la candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto del 2009 en la ciudad de Sucre.

### **Hipótesis**

La falta de frecuencia en la higiene bucal, la mala nutrición y los problemas de salud propios de este grupo etareo son factores predisponentes para una prevalencia importante de la candidiasis bucal de los pacientes de la tercera edad provocados por la *Candida albicans*.

### **Marco contextual**

#### **Reseña histórica**

##### **Bolivia**

En homenaje al libertador Simón Bolívar se la bautizo con el nombre de república de Bolívar el 6 de agosto de 1825, está situado en el centro oeste de América tiene frontera con 5 países al norte y este con Brasil, al sur este con Paraguay, al sur con Argentina, al oeste con Perú y al sur Este con Chile.

Bolivia de acuerdo al último censo del 2001 cuenta con 8.280.184 habitantes, de los cuales 4.123.850 son hombres y 4.150.475 son mujeres, Bolivia es considerando como país tercer mundista por el elevado índice de pobreza todavía existente.

Tiene una superficie de 1.098.581 Km. Cuadrados, está dividida en 9 departamentos, 112 provincias, 327 secciones municipales y 1652 cantones.

Según el INE (Instituto Nacional de Estadística), en nuestro país el 51% de los hogares urbanos no satisface sus necesidades básicas de vivienda, no dispone de energía, salud, educación, por otro lado el 21% de los hogares no tiene condiciones adecuadas de vivienda y el 68% presenta característica de hacinamiento por lo cual presentan escasa cobertura y deficiente funcionamiento de los servicios de saneamiento básico.

El 58% de los hogares no cuentan con agua potable, alcantarillado, tratamiento de aguas hervidas como corresponde deficiencias que repercuten en el estado general de la salud de la población y se manifiestan principalmente en los altos índices de morbilidad, mortalidad infantil, factores en el nivel de pobreza de nuestra población, por lo expuesto se deduce que estos factores socioeconómicos y sociales dados en nuestro país afectan grandemente a todos los departamentos siendo uno de ellos el departamento de Chuquisaca ya que la población está incorporada en el sector informal en pos de satisfacer mínimamente sus necesidades.

#### **Nivel de Salud en Bolivia**

Bolivia tiene un nivel de salud que está catalogado entre los más bajos de América Latina la mayor parte de su población vive en condiciones de pobreza ya que los ingresos económicos y social son muy reducidos que le impiden acceder a una adecuada alimentación y educación, esto influye para que exista todo tipo de enfermedades; anemias y diversas infecciones como ser el gastrointestinal, respiratorio.

**Chuquisaca**

Fue creado por el decreto supremo el 23 de enero de 1826 promulgado por el Mariscal de Ayacucho Antonio José de Sucre.

Aniversario departamental el 25 de Mayo en homenaje a la revolución de 1089 que inicio la guerra de la independencia. Chuquisaca tiene 10 provincias, 28 secciones municipales y 121 cantones.

Tiene una superficie de 51.524 Km. Cuadrados y una densidad de 10,32 habitantes por kilómetro. Tiene una población de 531.522 habitantes por kilómetro, de los cuales 49.03% son masculinos y 26.006% son femeninos, el 41.04% viven en el área urbana y el 58.096% vive en el área rural. Demografía de 8 habitantes por kilómetro cuadrado, su población es de 531.522 habitantes

**Sucre Capital de la República de Bolivia**

Sucre capital del departamento y además capital de Bolivia fundada el 29 de septiembre de 1538 con el nombre de “La Plata”, por el Capitán Pedro Anzures. Esta ciudad es conocida como la ciudad de los cuatro nombres: Charcas en el periodo prehispánico; La Plata en el periodo colonial; Chuquisaca en la Independencia y Sucre durante el periodo republicano, Esta a una altura de 2.760 m.s.n.m. cuenta con 10 provincias y 118 cantones.<sup>(7)</sup>

Sucre fue la ciudad más importante de América del Sur, como asiento de la Real Audiencia de Charcas. Actualmente en el departamento de Chuquisaca las prestaciones de SSPAM se desarrollan en sus diferentes provincias como en diferentes servicios de salud siendo uno de ellos el Hospital “Jaime Mendoza”.

**Hospital Jaime Mendoza**

La Caja Nacional de Seguridad Social, se inauguró el 25 de mayo de 1.958, estando ubicada la Administración Regional en la calle España N° 117; el Policonsultorio “25 de mayo”, posteriormente denominado Policlínico “35”, se encontraba en la calle Ravelo N° 20 y en él se atendían a los pacientes en Consulta Externa y en diferentes especialidades con las que contaba la Caja Nacional de Seguridad social.<sup>(8)</sup>

La Caja Nacional de Salud pudo inaugurar su propio Hospital en los predios que actualmente ocupa en la calle Villar N° 1, al final de la calle Colon, un 25 de mayo de 1976 durante la presidencia del Gral. Hugo Bánzer Suárez.

**Seguro de Salud para el Adulto Mayor**

El Seguro de Salud del Adulto Mayor (SSPAM), comprende la atención médica integral y gratuita a favor de las personas mayores de sesenta (60) años; ha sido instituido por Ley N° 3323 y está basado en el Código de Seguridad Social vigente; su Reglamento y disposiciones conexas están inspirados, a su vez, en los principios de universalidad, solidaridad, equidad e integralidad. <sup>(9)</sup>

El Seguro de Salud para el Adulto Mayor, garantiza servicios de salud a todas las personas mayores de sesenta (60) años, consistente en atención ambulatoria, servicios complementarios de diagnóstico, atenciones odontológicas, hospitalización, tratamientos médicos y quirúrgicos y la provisión de insumos, medicamentos necesarios y productos naturales tradicionales, de acuerdo a cada nivel de atención, acompañando el listado de prestaciones que será complementado en el plazo de treinta (30) días.

**Beneficiarios del SSPAM**

Se crea el Seguro de Salud Para el Adulto Mayor (SSPAM) en todo el territorio nacional, de carácter integral y gratuito. Otorgará prestaciones de salud en todos los niveles de atención del Sistema Nacional de Salud, a ciudadanos mayores de 60 años de edad con residencia permanente en el territorio nacional y que no cuenten con ningún tipo de seguro de salud.

El Ministerio de Salud y Deportes, en su calidad de ente rector y normativo de la salud a nivel Nacional, tiene la responsabilidad de reglamentar, regular, coordinar, supervisar y controlar la aplicación del Seguro de Salud Para el Adulto Mayor (SSPAM), en todos los niveles establecidos.

**Financiamientos del SSPAM**

El financiamiento del Seguro de Salud Para el Adulto Mayor (SSPAM), será cubierto con recursos municipales incluyendo los provenientes del Impuesto Directo a los Hidrocarburos.

Las disposiciones de esta Ley son de orden público, tienen carácter obligatorio y coercitivo para el Sistema Nacional de Salud, Gobiernos Municipales y el Sistema de Seguridad Social de Corto Plazo.

Los Gobiernos Municipales tienen la responsabilidad de implementar el Seguro de Salud para el Adulto Mayor (SSPAM).

**Responsabilidades del SSPAM**

En concordancia con el Modelo de Gestión vigente, el Sistema Nacional de Salud establece cuatro ámbitos de gestión:

- El Ministerio de Salud y Deporte.
- Prefecturas (Servicio Departamental de Salud).
- Gobiernos Municipales.
- Establecimientos de Salud.

**Marco teórico**

La salud no puede percibirse al margen de las críticas circunstancias políticas, económicas y sociales por las que atraviesa nuestro país y por ende las personas de la tercera edad, la desigualdad de distribución económica, humanas y materiales en este nivel social afecta de gran manera a la salud, debido a las condiciones y calidad de vida.

En la actualidad el sistema de salud resulta poco eficaz para llegar a toda la población, es necesario introducir cambios que reclaman equidad y justicia social a las instituciones públicas y privadas de nuestro país.

**Infección bucal**

Las infecciones bucales se las conoce desde hace un par de décadas, pero en ese entonces el diagnóstico micológico aun no estaba desarrollado, principalmente relacionada con las micosis superficiales, tiñas, infecciones cutáneo-mucosas.

Por las características propias de la cavidad bucal constituye un medio ecológico perfecto para el crecimiento y desarrollo de hongos y bacterias.



Las causas más frecuentes para las infecciones de la cavidad bucal son causadas por hongos de diversos géneros esto se debe a la mala nutrición, precarios hábitos de higiene bucal y puede ser de origen endógeno cuando su crecimiento se incrementa por cambios fisiológicos y bajas defensas del organismo. (1)

### **Sentido del gusto**

El sentido del gusto es el sentido que nos informa del SABOR de las sustancias, tiene por base la excitación química que dichas sustancias originan en ciertas formaciones de la lengua. (13)

### **La Lengua**

Es un órgano compuesto de numerosos músculos, está recubierto por una mucosa la cual comprende una dermis conjuntiva y un epitelio estratificado.

La lengua tiene la forma de un cono de vértice anterior, fuertemente aplanado de arriba abajo.

Su cara superior esta erizada en toda su superficie, de pequeñas saliencias llamadas papilas. Además en su parte media presenta un surco longitudinal.

Su cara inferior descansa sobre el suelo de la boca al cual está unida por un repliegue medio, el frenillo. A ambos lados de este en su parte inferior se observan los orificios de la glándula sublingual.

### **Esqueleto de la Lengua**

La lengua es una masa carnosa sostenida por un esqueleto osteofibroso, este esqueleto se compone de un hueso: el hioides, situado debajo y detrás de la lengua y de dos láminas fibrosas: La lamina hioglosa y la lamina media o septum.

La lámina hioglosa es horizontal y fijada en el hueso hioides, está situada en la parte posterior de la lengua.

La lámina media o séptum es un tabique vertical que divide longitudinalmente a la lengua en dos partes iguales.

### **Músculos de la Lengua**

Los músculos de la lengua son 17: 1 impar y 8 pares. Actúan sobre la lengua ya dirigiéndola hacia arriba o abajo, adelante o atrás, extendiéndola o retrayéndola, elevándola o bajando la punta.

### **Mucosa**

Las mucosas recubren casi toda la cavidad (labios, encías, mejillas, paladar duro) interrumpiéndose únicamente en los dientes y en las desembocaduras de las glándulas salivales.

Está constituida por un epitelio de revestimiento plano queratinocítico, tejido conjuntivo o lámina propia, bastante laxo. El epitelio sufre queratinización completa y se forma una capa córnea alrededor de las partes de la cavidad oral expuestas a importante acción mecánica (encías, paladar duro, dorso de la lengua).

En el resto hay cierto aplanamiento de las células superficiales, pero, pese a tener filamentos de queratina, se descaman en gran cantidad sin perder el núcleo, pues no se desarrolla estrato granuloso o córneo. Contiene mucina y fobronectina que desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento del ecosistema oral (por ejemplo: la mucina recubre superficies celulares bloqueando receptores para la adhesión de algunas bacterias de la cavidad oral).

La mucosa no es igual en toda la boca: En el dorso de la lengua es rugosa, por las papilas gustativas, en el interior de las mejillas es lisa y suave, mientras que en la porción anterior del paladar es muy firme y con pequeñas arrugas.

En la mucosa oral predominan los cocos gram positivos anaerobios facultativos (90%) como el *S. viridians*.

### Saliva

La saliva es un líquido ligeramente viscoso que proviene de las secreciones de las glándulas salivares mayores (parótida [serosa], sublingual [mucoserosa], y submaxilar [seromucosa]) y de las glándulas salivales menores (en labios, lengua, mejillas y paladar), y se extiende por toda la cavidad excepto en las encías y en la parte más anterior del paladar duro.

El 90% de la secreción salivar proviene de las parótidas y las glándulas submaxilares, el resto de las glándulas sublinguales y las glándulas salivares menores.

- **Glándulas parótidas:** se sitúan a nivel de las mejillas y vierten la saliva en la boca a través del conducto de Stenon.

- **Glándulas submaxilares** a ambos lados del suelo de la boca, que vierten la saliva a través del conducto de Wharton.

- **Glándulas sublinguales,** se sitúan en la parte anterior y central del suelo de boca. Vierten la saliva por los conductos de Rivinus y Bartholin.

Otras glándulas que también segregan saliva son las glándulas palatinas, situadas en el paladar blando, así como otras glándulas más pequeñas situadas en la lengua y en las mucosas de la boca. (5)

En condiciones de reposo existe un flujo continuo de saliva (0.3 ml/min. aproximadamente) que se ve aumentado hasta cifras cercanas a los 1.5 ml/min. Cuando hay un estímulo físico (masticación, fase previa de la ingestión).

Se segrega 1 a 1,5 litros de saliva diarios, esta cantidad también puede aumentar por el olor o visión de alimentos. Existe un ritmo circadiano, en el que la secreción desciende por la noche.

Su composición es la siguiente:

**Agua:** (95% del volumen) disuelve los alimentos, ayuda al sentido del gusto.

**Sales minerales:** Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, bicarbonato, fosfatos. El Cl<sup>-</sup> activa la ptialina, mientras que los 2 últimos neutralizan el pH de los alimentos ácidos.

**Moco:** Facilita la deglución y el tránsito gastrointestinal.

**Lisozima, peroxidasa:** antimicrobianos, protegen en parte los dientes de caries e infecciones.

**Enzimas :** la ptialina o alfa amilasa hidroliza el almidón , la lipasa lingual escinde lípidos ..

Sus funciones son de gran importancia en el mantenimiento de la salud de la cavidad bucal:

- Actúa como antimicrobiano gracias a la presencia de inmunoglobulinas, lisozima.
- Mantiene la integridad de la mucosa.
- Mantiene la cavidad limpia: lavando las superficies.
- Mantiene el pH a 6,5 (capacidad tamponadora, neutraliza la acidez tras la comida).
- Protege el esmalte de los dientes.
- Reparadora, favorece la mineralización.
- Digestiva, gracias a las enzimas. Inicia la digestión de carbohidratos (ptialina).
- Mantiene el equilibrio hídrico.
- Lubricante, formación del bolo, deglución, tránsito gastrointestinal.
- Mantiene la cavidad oral húmeda, alivia temporalmente la sed, facilita el lenguaje.
- Ayuda al sentido del gusto.

### **Fisiología de la cavidad bucal**

#### **Boca**

Cavidad articulada formada por 2 huesos (mandíbulas).

El paladar delantero es duro para ayudar a moler la comida, en cambio en paladar posterior es blando para ayudar a tragar el bolo. (23) En ella se inicia el proceso digestivo, en esto participan dientes, lengua y glándulas salivales.

#### **Diente**

Hueso modificado inserto en una cavidad del hueso maxilar llamado Alveolo dentario. El hueso maxilar está envuelto de un tejido conectivo fibroso muy irrigado llamado Encías. En todos los dientes se observan 3 partes:

**La Corona:** Determina la forma y función del diente.

**Cuello:** fija la corona a la encía.

**Raíz:** Fija el diente al hueso.

También tiene 3 capas:

**Esmalte:** Formado por sales de flúor, es dura y transparente.

**Dentina:** Formado por sales de Calcio.

**Pulpa Dental Vasos Sanguíneos:** (nutren y oxigenan el diente), vasos linfáticos (inmunizan al diente) y terminaciones nerviosas (dan sensación).

#### **Fisiología de la lengua**

Órgano sensorial (gusto).

Lenguaje hablado.

Digestión mecánica bucal (mezcla alimentos con saliva, presiona el alimento contra el paladar para compactar el bolo). Favorece la deglución (tragar).

## Fisiología de las glándulas salivales

2 pares de órganos:

- **Glándula sublinguales:** Acuosa; mantienen la boca lubricada (excepto stress).
- **Glándula Submaxilar:** Mixta; secreta en respuesta de ácidos.
- **Glándulas Parótidas:** Viscosa; son afectadas por un virus, produce parotiditis, paperas.

Glándulas Salivares secretan H<sub>2</sub>O, NaCl, Lisosoma (controla las bacterias de la piel, sudor, lagrimas), mucina (polisacáridos que forma mucosas, lubrica y suaviza el bolo), ptialina (desdobra el almidón a oligosacáridos y maltosa. Regulación química y nerviosa de las secreciones digestivas.

**Regulación química:** Participan las hormonas.

**Regulación nerviosa:** Participa el Sistema nervioso.

Arco reflejo es una unidad estructural y funcional del Sistema Nervioso y está formado por 5 estructuras:

**Receptor:** Neurona sensitiva que capta energía del estímulo y lo transforma en impulso nervioso.

**Vía Sensitiva o Aferente:** Conjunto de fibras nerviosas que conducen el impulso nervioso desde el receptor al centro elaborador.

**Centro Elaborador:** Cualquier estructura ubicada dentro del Sistema Nervioso Central que elabora la respuesta frente a un estímulo.

**Vía Eferente:** Conjunto de fibras nerviosas que conducen el impulso desde el centro elaborados al efector.

**Efector:** Cualquier músculo o glándula que efectúa la respuesta ante el estímulo.

## Generalidades de micología

La micología es una rama de la microbiología que tiene por objeto el estudio de los hongos.

El término micología proviene del griego mykos = hongos, logos = estudio o tratado, este término fue usado por primera vez por Miles Joseph Berkeley entre los años 1803 y 1889, sin embargo la micología fue considerada como disciplina científica se debe a Agostino Bassi considerado padre de la micología y a Raymond Jacques Adrien Sabouraud micologista y dermatólogo. (10)

Los hongos se han considerado como miembros del reino vegetal es un grupo bien definido que recibe la denominación mycota (hongo) se caracteriza por que están formados por pseudotejidos en forma de filamentos llamados hifas o levaduras unicelulares o pluricelulares que en conjunto forman el micelio.

La respiración de la mayoría es aerobia (en los hongos unicelulares es anaerobia), tiene reproducción asexual por bipartición, gemación y esporulación, pero también pueden reproducirse de manera sexual por isogamia, anisogamia y heterogamia, la pared de los hongos contiene quitina. (15)

Los hongos son microorganismos de vida libre que constituyen parte del medio ambiente o de la flora normal del huésped, capaces de infectar al hombre de manera accidental cuando bajan las defensas.

En la división mycota se encuentran:

**Mixomycota:** (Mixomicetos) representada por mohos viscosos que forman plasmodios que son masas citoplasmáticas con muchos núcleos.

**Eumycota:** (Eumicetos) son hongos verdaderos que se incluyen en cuatro familias.

- **Zygomycotina:** Antes se denominaban ficomicetos, son hongos filamentosos con hifas no tabicadas y cenocíticas se reproduce de manera sexual dando lugar a la zigospora y oospora y la reproducción asexual formando conidios o esporangiosporos.
- **Ascomycotina:** Presentan micelios con hifas tabicadas que se reproducen de manera sexual que involucra al ascus (estructura en forma de saco) que contiene las ascosporas y tienen una fase asexual dando lugar a los conidios.

A esta familia pertenecen los géneros penicillium y aspergillus. los géneros patógenos incluyen: klveromyces, endomyces, leptosphaeria, arthoderma y ajellomyces.

- **Basidiomycota:** Se caracteriza por un micelio septado, la reproducción da lugar a basidiosporas que se producen en la estructura llamada basidio.
- **Deuteromycota:** Hongos imperfectos, comprenden hongos filamentosos septados y levaduras unicelulares su reproducción es asexual que da lugar a esporas denominadas conidios y talosporas.

En los últimos años, se ha observado una tendencia creciente, por parte de los micólogos, a separar las infecciones de la piel, pelos y uñas en dos grupos:

**Micosis superficiales** (Incluyen aquellas enfermedades que generalmente no producen una respuesta inflamatoria en el huésped).

**Micosis cutáneas** (Donde el hongo se confina al estrato córneo y produce cambios inflamatorios).

### Género cándida

El género Candida es agente causal de infecciones agudas y sub agudas en la que el hongo de cualquier especie produce lesiones a nivel de la boca, vagina, piel, uñas, bronquios. La denominación de candidiasis para la enfermedad identifica principalmente a las lesiones producidas por el género Candida albicans.

Las candidiasis son las infecciones agudas o crónicas, superficiales o profundas, causadas por levaduras del género Cándida. (19) La Candida albicans tiene que encontrarse en su forma levaduriforme para iniciar la lesión.

Las células de Candida albicans son redondeadas u ovaladas que mide de 2 a 4 micras y aparecen de forma individual o asociadas formando pseudomicelios, son Gram positivas y su metabolismo es principalmente aerobio.

Forman parte de la flora saprofita mucocutánea existiendo un equilibrio entre su virulencia y los mecanismos de defensa del huésped. "Cándida albicans" se encuentra habitualmente formando parte de la flora gastrointestinal y bucal y también como parte de la flora vaginal.

Las levaduras del género Candida tienen su hábitat natural en la mucosa rectal, vaginal y bucal, por lo que la mayoría de los procesos pueden considerarse de transmisión endógena.(22)

La Candidiasis puede ser el resultado de la contaminación de sondas o catéteres, así como de traumatismos gastrointestinales o, también, del paso a la sangre de una Candidiasis ya establecida.

La diferenciación entre contaminación por catéter y expresión de una candidiasis sistémica es difícil de establecer, por lo que actualmente se recomienda tratar con antifúngicos cualquier Candidiasis, independientemente de su origen.

Las infecciones por especies del género *Candida* y especialmente por *Candida albicans*, la más patógena, han aumentado notablemente en los últimos 30 años.

Según Mc Ginnis (1976) ha mencionado a 14 especies de importancia medica:

- *Candida albicans*.
- *Candida stellatoidea*.
- *Candida krusei*.
- *Candida guilliermondii*.
- *Candida tropicales*.
- *Candida pseudotropicalis*.
- *Candida parapsilosis*.
- *Candida humicola*.
- *Candida vini*.
- *Candida viswanathii*.
- *Candida zeylaoides*.
- *Candida rugosa*.
- *Candida curvata*.

- *Candida norvegensis*

### Rol patógeno

La *Candida albicans* forma parte de la flora normal del organismo humano pero la presencia natural de otros microorganismos previenen su crecimiento descontrolado, (bacterias que coexisten con las levaduras en las mismas localizaciones) este tipo de hongos se encuentra colonizando el tracto digestivo desde pocas horas del nacimiento, también se encuentra de forma habitual en piel, estómago, colon, recto, boca, vagina y garganta de individuos sanos. Sin embargo, perturbaciones externas, como el uso de ciertos detergentes, variaciones del pH, o internas, como cambios hormonales o fisiológicos, pueden causar alteraciones del hábitat y resultar en un crecimiento anormal de los hongos.

La mayoría de las infecciones por *Candida albicans* es de origen endógeno cuando su crecimiento se incrementa por cambios fisiológicos con bajas defensas.

La *Candida albicans* posee algunos factores de patogenicidad que le permiten desarrollar patología con mayor frecuencia de lo que ocurre con otras especies de *Candida*, el microorganismo necesita encontrarse en su fase levaduriforme para iniciar lesión.

Para que la *Candida albicans* pase de comensal a patógena depende de tres factores:

**Hospedero:** Entre los factores de dependen del hospederos podemos mencionar; las alteraciones en la barrera mucosa, alteraciones en la saliva, periodos extremos de la vida, alteraciones hormonales, alteraciones nutricionales.

**Microorganismo:** Entre los factores que dependen del microorganismo, se refiere a su virulencia la capacidad que tiene el microorganismo de evadir los mecanismos de defensa del hospedero y provocar lesiones en los tejidos.

**Microambiente:** Está relacionada con las alteraciones de su microambiente interviene factores externos como el uso de prótesis dental, precarios hábitos de higiene bucal, uso de antibióticos por tiempo prolongado.

### Formas clínicas de candidiasis

La candidiasis sistémica es la micosis sistémica más frecuentemente observada en nuestro medio. Está producida por *Candida albicans* y otras especies del mismo género al invadir la sangre u otros órganos profundos.

Las infecciones por hongos y las enfermedades que causan micosis convencionalmente se han venido clasificando, basándose en su localización anatómica. Son muy variables dependiendo de su localización.

En los últimos años, se ha observado una tendencia creciente, por parte de los micólogos, a separar las infecciones de la piel, pelos y uñas en dos grupos:

**Micosis superficiales** (incluyen aquellas enfermedades que generalmente no producen una respuesta inflamatoria en el huésped) y **Micosis cutáneas** (donde el hongo se confina al estrato córneo y produce cambios inflamatorios); sin embargo, en sentido estricto, esta clasificación es artificial ya que las micosis profundas oportunistas, las subcutáneas y las causadas por hongos dimórficos también pueden tener manifestaciones cutáneas.

### Candidiasis Cutánea

La zona más frecuentemente afectada son los pliegues cutáneos donde la humedad crea un hábitat adecuado para su supervivencia. Se puede manifestar como:

#### - Intertrigos candidiásicos

Es la forma clínica más frecuente. Puede afectar a grandes pliegues como son axilas, ingles, pliegue interglúteo, región submamaria, cara lateral de cuello y región retroauricular y en personas obesas en el pliegue suprapúbico. <sup>(21)</sup>

La piel está enrojecida, ligeramente edematosa y puede que en la superficie haya elementos vesículo - pustulosos. Es muy típico observar como estas áreas están delimitadas por un fino reborde escamoso, apareciendo lesiones satélites. El paciente refiere prurito intenso y quemazón.

#### - Erosión interdigital

Infección localizada en pequeños pliegues como son espacios interdigitales de manos y pies.

#### - Candidiasis del pañal

Intertrigo del lactante localizado en los pliegues inguinales, suprapúbico e interglúteo.

#### - Foliculitis

Infección del folículo piloso en los pacientes VIH positivos.

### - **Onicomycosis candidiásica**

Con cierta frecuencia aparece en niños con muguet y en adultos con intertrigo de pequeños pliegues interdigitales. Puede mostrarse como una inflamación dolorosa del reborde periungueal, acompañada de mínima secreción purulenta o bien como un engrosamiento de la lámina ungueal con depresiones puntiformes y surcos trasversales. (27)

Una tercera forma es la onicolisis candidiásica con despegamiento de la lámina ungueal. En las lesiones cutáneas el agente causal más frecuentemente aislado es *Candida albicans*. Sin embargo, en las onicomycosis, pueden también aislarse *C. parapsilosis* y otras especies. Además de la afectación primaria, en la piel también pueden desarrollarse lesiones como expresión metastásica de una candidiasis diseminada. Son lesiones macronodulares y es necesaria la biopsia para su estudio microbiológico.

### **Infección en las mucosas por candida spp.**

#### **Oral o Muguet**

Es una infección bucal caracterizada por la aparición de manchas blanco-cremosas en la lengua y en otras superficies de la mucosa bucal como la cara interna de las mejillas o el paladar blando. Pueden ser eliminadas dejando una superficie sangrante y dolorosa. (18)

Estas placas pseudomembranosas están constituidas por células epiteliales descamadas, leucocitos, queratina, tejido necrótico, bacterias e incluso, restos alimenticios.

El diagnóstico se confirma fácilmente por la visualización de las levaduras gemantes, blastosporadas, incluso con hifas verdaderas, al realizar un examen microscópico en fresco o mediante tinción de Gram. Dentro de las lesiones candidiásicas orales existen otras formas clínicas:

#### - **Candidiasis atrófica aguda**

Atrofia de la lengua como secuela de la previamente descrita pseudomembranosa.

#### - **Candidiasis atrófica crónica**

Reacción inflamatoria crónica con engrosamiento epitelial bajo las placas dentales.

#### - **Queilitis angular**

Inflamación de las comisuras labiales.

#### - **Lengua pilosa negra**

No siempre debida a *Candida* y caracterizada por hipertrofia de las papilas que pueden alcanzar gran longitud y color negro en la parte central del dorso.

La especie causal más frecuente es *C. albicans*, pero en los pacientes tratados con fluconazol puede aislarse *C. glabrata* y *C. krusei*, especies menos sensibles o resistentes a este antifúngico. *C. dubliniensis* es otra especie que se encuentra con relativa frecuencia en la cavidad oral, sobre todo en pacientes con sida, pero puede estar colonizando sin producir lesiones. (20)

### **Esofagitis**

Esta entidad se suele asociar a procesos malignos hematológicos y al sida. La invasión del esófago suele producirse por diseminación directa de un foco bucal.



Los síntomas más comunes son la disfagia y el dolor subesternal. El diagnóstico definitivo se realiza mediante biopsia endoscópica o por cepillado esofágico siendo necesario hacer el diagnóstico diferencial con una infección por herpesvirus, ya que la mayoría de los pacientes son inmunodeprimidos.

### **Candidiasis de Mucosa Gastrointestinal, no Esofágica**

Se asocia a procesos malignos y suele presentarse como una úlcera o un grupo de ellas, tanto en mucosa gástrica como en intestino delgado o grueso. Al igual que en otras candidiasis mucosas, se pueden observar las típicas placas blanquecino cremosas por endoscopia.

### **Vulvovaginitis**

Habitualmente cursa con leucorrea y placas pseudomembranosas en la cavidad vaginal, aunque también la vulva, el periné y la región inguinal se afectan con cierta frecuencia. Se acompaña de prurito y molestias locales que pueden originar dispareunia y dolor en la micción. Se observa con más frecuencia en pacientes diabéticas, gestantes o sometidas a terapia antibiótica. *Candida albicans* es la especie más frecuentemente aislada.

### **Balanitis**

Suele iniciarse con vesículas en el pene que evolucionan, en los casos intensos, a placas pseudomembranosas, erosiones o pústulas superficiales en el glande y en el surco balanoprepucial.

Las lesiones pueden extenderse a escroto y pliegues, acompañándose de prurito y escozor intenso. *Candida albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia.

Con esta denominación se engloban un conjunto heterogéneo de infecciones causadas, sobre todo, por *Candida albicans* en piel, mucosas, pelos o uñas y que presentan una evolución pertinaz a pesar de la terapia antifúngica convencional.

Es un proceso poco frecuente que se asocia a alteraciones inmunológicas en el huésped y suele coincidir con otras infecciones; afecta con más frecuencia a niños, pero puede manifestarse durante toda la vida. (15)

Los pacientes suelen presentar anergia, con falta de capacidad de respuesta a los mitógenos, déficit de linfoquinas, hipoparatiroidismo, deficiencia en el metabolismo del hierro o avitaminosis

### **Candidiasis Visceral**

Puede ser a nivel bronco pulmonar, pulmonar, endocardica, meningoencefalica, renal, esofágica, gástrica o intestinal, son muy raros los casos en articulaciones y huesos.

### **Micosis de la Cavidad Oral**

Las micosis de la cavidad oral son frecuentes y habitualmente de carácter leve o moderado. La mayoría están producidas por *Candida albicans* y, en menor medida, por otras especies de *Candida*.

Se observan especialmente en pacientes portadores de prótesis o con inmunodeficiencias, considerándose que cuatro de cada mil pacientes que acuden a una consulta dental general presentan síntomas de infección oral candidiásica. (10 - 11)

La mayor parte de las candidiasis orales son asintomáticas y más frecuentes en lactantes, ancianos y personas con factores predisponentes generales o locales.

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un importante factor predisponente y, en personas con sida, estas lesiones pueden ser indicadoras de la evolución de la enfermedad.

### **Candidiasis Pseudomembranosa Aguda (Muguet)**

Candidiasis pseudomembranosa aguda (muguet) Es frecuente en niños y ancianos y puede observarse también en personas que son tratadas con corticoides en aerosol por procesos asmáticos u obstructivos pulmonares crónicos. Se caracteriza por la presencia de grumos o placas blancas o blanco - amarillentas (masas de hifas, levaduras y restos celulares) que tienden a confluir y asientan sobre una mucosa enrojecida.

### **Candidiasis Eritematosa Aguda**

Es una complicación común del tratamiento con antibacterianos de amplio espectro. Se presenta como un área rojiza, sin grumos o placas, en el dorso de la lengua y el paladar (imagen clásica "en espejo"). Cuando la lengua está afectada, el dorso está depilado, brillante y liso.

El paciente se queja de dolorimiento o quemazón, tolera mal los alimentos sólidos y el consumo de líquidos causa dolor. Esta forma de candidiasis es la más común en los pacientes infectados por el VIH.

### **Candidiasis Hiperplásica**

Se confunde con los términos leucoplasia candidiásica y candidiasis nodular. Es la forma menos frecuente y se presenta como una lesión asintomática en placas o pequeños nódulos blancos adheridos firmemente a un área eritematosa, en las zonas retro comisurales y, con menor frecuencia, en la lengua.

### **Queilitis Angular (Boqueras)**

Se caracteriza por la aparición de eritema, grietas o fisuras en las comisuras labiales. Intervienen diferentes factores que van desde anomalías relacionadas con el envejecimiento (aparición de arrugas y pérdida de la dimensión vertical de la boca), humedad, defectos protéticos, etc. Lo habitual es que esté asociada a otras formas de candidiasis oral. (26)

En muchas ocasiones se trata de una infección mixta por *Staphylococcus* y *Candida*, con múltiples cofactores locales y sistémicos. En los pacientes con infección por VIH, la queilitis angular suele ser crónica.

### **Otras Micosis**

Criptococosis, aspergilosis, etc. afectan con menor frecuencia a la cavidad bucal. (10 - 12)

La criptococosis bucal se observa casi de manera exclusiva en pacientes con sida o linfoma y se caracteriza por la aparición de lesiones nodulares, vegetativas o ulceradas, de color rojo-violáceo, que tienen tendencia a necrosarse en personas inmunodeprimidas.

Las lesiones bucales por otros hongos son mucho menos frecuentes, con la excepción de las mucormicosis que pueden comenzar con lesiones en paladar (eritematosas, vegetantes y ulcerativas) que se van extendiendo por contigüidad, con gran destrucción tisular, a senos paranasales, órbita ocular, cráneo y cerebro, con alta mortalidad (mucormicosis rinocerebral). (23)

Estas micosis se observan en pacientes con diabetes mellitus mal controlada y en enfermos en tratamiento con desferroxamina. El agente más frecuentemente aislado es *Rhizopus arrhizus*.

### **Diagnostico de Candidiasis**

Para alcanzar el éxito en el diagnóstico micológico es fundamental realizar adecuadamente la recogida de la muestra, su transporte y procesamiento, la siembra de la misma en los medios idóneos, temperatura, pH, humedad adecuadas, así como la identificación e interpretación correcta de los aislamientos. (17)

A la hora de valorar un crecimiento fúngico, hay que tener siempre presente la necesidad de diferenciar un “aislamiento significativo” de otros debidos a hongos contaminantes, ya que no es lo mismo identificar una especie fúngica que diagnosticar una micosis.

A continuación se detallan los fundamentos y recomendaciones básicas del diagnóstico micológico y en los siguientes, las características específicas del procesamiento de cada muestra según el origen anatómico de la misma. En los pacientes con candidiasis:

### **Examen directo**

El examen directo puede servir para identificar presuntivamente el hongo e informar acerca de la cantidad relativa de células de *Candida* (Levaduras, pseudohifas) presentes en la muestra.

### **Tinción**

La infección por *Candida albicans* en preparaciones de hisopados de la cavidad bucal teñidas, puede sospecharse al observar abundante cantidad de leucocitos, abundante cantidad de células epiteliales y una mezcla de levaduras, pseudohifas e hifas presentes en la muestra.

### **Tinción de Gram**

La Tinción de Gram es una técnica barata y rápida, que nos permitirá observar levaduras gemantes o formando pseudohifas con mayor claridad.

Esta tinción es la más utilizada en bacteriología, fue ideada por Cristhian Gram en 1884, la cual nos permite la identificación de las bacterias en dos grandes grupos; Gram positivas y Gram negativas, según la coloración que tomen.

Las Gram Positivas son aquellas que retienen en su pared celular el colorante cristal violeta, quedando coloreadas de color violeta intenso o azul.

Las Gram Negativas son las que no tienen en su pared celular el cristal violeta al ser decoloradas con el alcohol acetona, tiñéndose de rosado con el colorante safranina.

**Fundamento**

La diferencia de coloración entre los dos grupos de bacterias se debe a la diferente composición química de la pared celular, así tenemos los siguientes aspectos. (23)

La pared celular de las bacterias Gram positivas contienen peptidoglicano, polisacáridos, glicerofosfatos y proteínas.

La pared celular de las bacterias Gram positivas poseen ácidos teicoicos que se unen al peptidoglicano y constituyen el 50 % del peso de la pared celular. La pared celular de las bacterias Gram positivas surge como una capa gruesa y homogénea. Con el lugol se forma el complejo cristal violeta yodo en ambos tipos de bacterias.

La pared celular de las bacterias Gram positivas el complejo cristal violeta yodo queda retenida en la pared celular, después del tratamiento con el decolorante alcohol acetona.

En las bacterias Gram negativas el complejo cristal violeta yodo es extraído después del tratamiento con el decolorante.

Las bacterias Gram negativas contienen el péptidoglicano en pequeña cantidad y predomina los lípidos.

La pared celular de las bacterias Gram negativas surge como una capa delgada cerebriforme y estratificada. Se debe destacar que los hongos levaduriformes son Gram positivas.

**Preparación del frotis**

Los pasos que se siguen para preparar un frotis o extendido son los siguientes:

El operario debe tener a su disposición todo el material necesario para la adecuada toma de muestra, además de que se debe usar guantes para la toma de muestra y durante la manipulación y procesamiento de la muestra.

En la cavidad bucal del paciente se puede observar la muestra con las siguientes características; la presencia de placas pseudomembranosas blanquecinas cremosas que pueden recubrir la lengua, mucosa oral y en ocasiones afecta la comisura labial y se asientan sobre una mucosa enrojecida.

Se debe pedir al paciente que se siente frente al operador y se le pide que abra la boca para visualizar el lugar más idóneo para tomar la muestra. (paladar, cara superior o inferior de la lengua, mucosas enrojecidas, encías con placas blancas o amarillentas) cualquiera de estos lugares es idóneo para la toma de muestra.

Con la ayuda de un hisopo estéril se procede a recoger la muestra de la cavidad bucal, teniendo el cuidado de escoger la mejor muestra con las siguientes características (placas pseudomembranosas blancas o amarillentas que pueden cubrir la lengua, mucosa oral, e incluso afectan la comisura labial).

Sobre un portaobjeto limpio y seco se deposita la muestra que fue obtenida por hisopado de la cavidad bucal y se procede a realizar el extendido con la ayuda del hisopo haciendo rodar en el centro del portaobjeto en un tamaño no más de 2 cm., este hisopo ya no se utiliza para sembrar.

El material colocado sobre el portaobjeto se deja secar a temperatura ambiente o por acción del calor, ya sea haciendo pasar por la llama del mechero, cuidando que el vidrio no se rompa por excesivo calentamiento o también en la estufa a 37 °C.

La fijación se realiza por calentamiento, consiste en hacer pasar el portaobjetos, 2 a 3 veces por la llama del mechero con el objeto de hacer que las proteínas de las bacterias se coagulen y estas queden adheridas al portaobjeto, se deja enfriar unos segundos, para luego realizar la coloración, también se puede fijar con alcohol de 96 grados (el calentamiento tiene por objeto matar las bacterias patógenas y fijar el material al portaobjeto).

## **Cultivo**

### **Cultivo en Agar Sabouraud con Cloranfenicol**

En el medio de Saboraud con cloranfenicol, para la siembra la muestra se toma con hisopo se pasa por la pared inclinada del medio, haciendo girar el hisopo con la muestra y se incuba a temperatura ambiente de 24 hrs. a 48 hrs. Transcurrido este tiempo se observan las colonias cremosas, brillantes y redondeadas. (23)

## **Fundamento**

Posee muchas variedades pero se trata de un preparado en base a peptona, agar y 2% de glucosa, posteriormente se le añade cloranfenicol.

En este medio solo desarrollan hongos cumpliendo así su función los antibióticos de no permitir el desarrollo de bacterias que acompañan normalmente a los hongos de una muestra.

## **Prueba del Tubo germinativo**

### **Fundamento**

En la prueba del tubo germinativo o también llamado test de filamentacion preparamos una suspensión de levaduras en 0.5-1 mL de suero de conejo e incubamos a 35-37°C no más de 3 horas.

Transcurrido el tiempo observamos al microscopio la presencia o ausencia de tubos germinales, es decir, de filamentos que no constriñen su punto de origen en la levadura.

La prueba del tubo germinativo es una prueba rápida, confiable y específica para la identificación de hongos del género *Candida albicans*, ya que se debe observar la presencia de filamentos o tubos germinativos.

### **Marco operativo**

El presente estudio es descriptivo; transversal y observacional ya que los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades más importantes de una persona comunidad o cualquier otro fenómeno que sea sometido a análisis.

Por lo tanto tiene la misión de describir las características de la candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten al hospital Jaime Mendoza, como también determinara la relación que existe entre algunas variables en el momento de la investigación. Transversal por haber desarrollado en un momento determinado (7 meses) y observacional por la aplicación de los métodos durante el procesamiento e interpolación de los resultados de laboratorio.

**Fijación de límites****Espacio**

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en el laboratorio de Bacteriología-Parasitología dependiente del Hospital Jaime Mendoza de la ciudad de Sucre.

**Tiempo**

El tiempo de la investigación fue aproximadamente de 7 meses (Enero – Agosto) del 2009.

**Universo**

El universo de estudio conformaron todos los pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al hospital Jaime Mendoza en los meses de Enero – Agosto 2009 y se les extendió una orden laboratorial.

**Muestra**

Las 75 muestras fueron obtenidas mediante hisopado bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza en los meses de Enero – Agosto del 2009.

En la recolección de las muestras se utilizaron los siguientes materiales:

- Hisopo estéril.
- Porta objeto.
- Tubo de ensayo.
- Caja de petri.
- Mechero bunsen.
- Estufa.

**Tinción**

La tinción fue Tinción de Gram

**Medios de Cultivo**

Los medios de cultivo utilizados fueron:

- Agar sabouraud (Aislamiento primario).
- Prueba del Tubo Germinativo (Identificación).

**Unidad de investigación**

Representada por un paciente de la tercera edad.

**Variables**

Las variables fueron:

**Variables Independientes**

- Edad.
- Sexo.
- Procedencia.
- Condición Socio – Económica.
- Frecuencia de higiene bucal.
- Hábitos alimenticios.

**Variables Dependientes**

Candidiasis bucal.

**Definición operacional****Edad**

Para esta investigación se considero los siguientes parámetros de edades, mayores de 60 años.

**Sexo**

Se tomo para el estudio pacientes de la tercera edad de ambos sexos.

**Procedencia**

Por medio de la entrevista con el paciente se sabrá de donde vino (si es migrante).

**Condición Socio – Económica**

Se determino tomando en cuenta de donde provienen sus ingresos económicos; si tiene ayuda familiar o ingresos propios.

**Candidiasis en Cavidad bucal**

Mediante el examen de hisopado bucal se identificaran los hongos del género Candida.

**Recolección de la muestra**

El diagnóstico de las micosis comienza con su sospecha clínica por lo que una adecuada obtención de la muestra, a partir de la lesión, y su correcta manipulación, para mantener la viabilidad del agente etiológico y evitar posibles contaminaciones, son aspectos fundamentales que siempre deben tenerse en cuenta para la obtención de un correcto diagnóstico micológico.

No debe olvidarse la importancia de etiquetar y rellenar adecuadamente la orden laboratorial, de forma que refleje claramente la sospecha clínica y los factores predisponentes del paciente; destacando, si los hubiera, la existencia de tratamientos que pudieran interferir en el aislamiento del miceto.

**Toma de Muestra**

El operario debe tener a su disposición todo el material necesario para la adecuada toma de muestra, además de que se debe usar guantes para la toma de muestra y durante la manipulación y procesamiento de la muestra.

En la cavidad bucal del paciente se puede observar la muestra con las siguientes características; la presencia de placas pseudomembranosas blanquecinas cremosas que pueden recubrir la lengua, mucosa oral y en ocasiones afecta la comisura labial y se asientan sobre una mucosa enrojecida.

Se debe pedir al paciente que se siente frente al operador, se le pide que abra la boca para visualizar el lugar más idóneo para tomar la muestra.(paladar, cara superior o inferior de la lengua, mucosas enrojecidas, encías con placas blancas o amarillentas) cualquiera de estos lugares es idóneo para la toma de muestra.

Con la ayuda de un hisopo estéril se procede a recoger la muestra de la cavidad bucal, teniendo el cuidado de escoger la mejor muestra con las siguientes características (placas pseudomembranosas blancas o amarillentas que pueden cubrir la lengua, mucosa oral, e incluso afectan la comisura labial).

Sobre un portaobjeto limpio y seco se deposita la muestra que fue obtenida por hisopado de la cavidad bucal y se procede a realizar el extendido con la ayuda del hisopo haciendo rodar en el centro del portaobjeto en un tamaño no más de 2 cm., este hisopo ya no se utiliza para la siembra.

El material colocado sobre el portaobjeto se deja secar a temperatura ambiente o por acción del calor, ya sea haciendo pasar por la llama del mechero, cuidando que el vidrio no se rompa por excesivo calentamiento o también en la estufa a 37 °C.

La fijación se realiza por calentamiento, consiste en hacer pasar el portaobjetos, 2 a 3 veces por la llama del mechero con el objeto de hacer que las proteínas de las bacterias se coagulen y estas queden adheridas al portaobjeto, se deja enfriar unos segundos, para luego realizar la coloración, también se puede fijar con alcohol de 96 grados (el calentamiento tiene por objeto de bajar el grado de patogenicidad de las bacterias patógenas y fijar el material al portaobjeto).

Posteriormente con un nuevo hisopo estéril se recoge otra muestra para poder sembrar en el medio de Sabouraud con cloranfenicol, el hisopo con la muestra se pasa por la pared inclinada del medio, haciendo girar el hisopo con la muestra y se incuba a temperatura ambiente de 24 hrs a 48 hrs.

Y finalmente se realiza el test de filamentación que consiste en: preparar una suspensión de levaduras en 0.5 - 1 ml de suero e incubamos de una a dos colonias presentes en el medio sabouraud a 35-37°C no más de 3 horas.

## **Diagnóstico**

### **Observación Macroscópica**

Antes de realizar el examen microscópico e inocular el medio de cultivo, la muestra fue examinada en busca de grumos o placas blancas o blanco - amarillentas, de placas pseudomembranosas blanquecinas cremosas que pueden recubrir la lengua, mucosa oral y en ocasiones afecta la comisura labial (masas de hifas, levaduras y restos celulares) que tienden a confluír y asientan sobre una mucosa enrojecida.

### **Examen Microscópico**

#### **Tinción de Gram**

Las muestras fueron examinadas coloreándose con tinción de Gram, en infecciones causadas por hongos del género *Candida albicans*, se confirma la presencia de hongos si en ella se observa abundante cantidad de leucocitos, células epiteliales, piocitos, levadura y pseudohifas de tipo *Candida*. (27)

La observación microscópica se realizó con objetivo de inmersión (100x). Las formas observadas fueron levaduras hifas y pseudohifas.

### **Fundamento**

La diferencia de coloración entre los dos grupos de bacterias se debe a la diferente composición química de la pared celular.

Se debe destacar que las levaduras de hongos son Gram Positivas.



**Procedimiento de la Tinción de Gram – Técnica Convencional** (23)

Cubrir el portaobjeto (frotis) con el cristal violeta durante un minuto.

- Lavar con agua corriente y eliminar el exceso (usar pizeta).
- Cubrir la preparación con lugol, dejar un minuto.
- Lavar con agua corriente y desechar el exceso.

Cubrir con el alcohol acetona, dando movimientos de vaivén a la lámina para que salga todo el colorante, si la muestra fuera gruesa repetir la decoloración hasta que el alcohol acetona no arrastre más colorante violeta, alrededor de unos 3 minutos.

Lavar con agua corriente y quitar el exceso.

Cubrir la preparación con safranina, dejar en contacto por 20 segundos.

Lavar con agua corriente.

Dejar secar al aire o al calor de la estufa.

Observar al microscopio con el objetivo de 100x (inmersión). Se observa las diferentes bacterias con su forma y coloración características.

**Cultivo en Agar Sabouraud con Cloranfenicol**

El objetivo fundamental de la utilización de los medios de cultivo es optimizar el crecimiento de los microorganismos.

El primer medio de cultivo que permitió el aislamiento de los gérmenes en medios artificiales fue el propuesto por Koch, en 1876, basado en el uso de gelatina. Posteriormente, Frost en 1909 utilizó medios deshidratados y en 1919, añadió agar, lo que proporcionó un gran avance en el estudio de la microbiología.<sup>(17)</sup>

Para el aislamiento primario de la muestra esta fue cultivada en Agar Sabouraud con cloranfenicol.

En el medio de Sabouraud con cloranfenicol, para la siembra la muestra se toma con hisopo se pasa por la pared inclinada del medio, haciendo girar el hisopo con la muestra y se incuba a temperatura ambiente de 24 hrs. a 48 hrs, transcurrido este tiempo se observa colonias con las siguientes características; colonias cremosas, brillantes y redondeadas.

**Fundamento**

Posee muchas variedades pero se trata de un preparado en base a peptona, agar y 2% de glucosa, posteriormente se le añade cloranfenicol.

En este medio solo desarrollan hongos cumpliendo así su función los antibióticos de no permitir el desarrollo de bacterias que acompañan normalmente a los hongos de una muestra.

**Procedimiento**

Se debe seguir los siguientes pasos.

Se siembra con asa bacteriológica o hisopo, luego de obtener la muestra procedemos a destapar el tubo, para lo cual usamos el borde cubital de la mano aprisionado con el dedo menique el tapón, haciendo girar tan solo el tubo con la otra mano.

Procedemos a flamear con dos o tres pases rápidos sobre la llama del mechero la boca del tubo.

Introducimos el asa o hisopo de tal manera que no toque el medio de cultivo ni las paredes hasta llegar al fondo del agar” en declive” donde recién depositamos la alícuota extrayendo el instrumento utilizado. Sembrando por agotamiento, procedemos a flamear la boca del tubo para finalmente cerrarlo.

Llevar a incubar a temperatura ambiente de 24 horas a 48 horas. Observar el desarrollo de las colonias.

Se observa colonias con las siguientes características: colonias cremosas, brillantes y redondeadas.

La identificación de las levaduras o pseudohifas no se realiza observando el aspecto de las colonias, debemos realizar pruebas de identificación como ser:

- Prueba del tubo germinativo.
- Producción de pseudomicelios y clamidosporas.
- Fermentación y asimilación de azúcares.

De estas tres pruebas la que se realiza en el Hospital Jaime Mendoza es la prueba del tubo germinativo con la que se confirma la presencia de hongos del género *Candida albicans*. La cual será detallada a continuación.

## **Prueba del Tubo germinativo**

### **Fundamento**

La prueba del tubo germinativo es una prueba rápida, confiable y específica para la identificación de hongos del género *Candida albicans*, ya que se debe observar la presencia de filamentos o tubos germinativos. (27) Prueba diferencial para *Candida albicans*.

### **Procedimiento**

Se debe seguir los siguientes pasos.

- Colocar 0,5 ml de suero de cordero o suero humano en tubos de ensayo.

Tomar de 1 a 2 colonias que se desarrollaron en el agar sabouraud e inocular en el tubo de ensayo que contiene el suero.

- Realizar una suspensión en el suero con las colonias.
- Incubar de 2 a 3 horas a 35 °C a 37°C.

Transcurrido el tiempo adecuado observamos al microscopio. Colocar en un porta objeto 2 gotas de suspensión.

Observar al microscopio con objetivo de 10x y 40x, (debemos observar el crecimiento de tubos germinativos).

Buscar la presencia o ausencia de tubos germinativos, es decir células con apéndices en uno de los extremos. El test será positivo si se observan los tubos germinales (*Candida albicans*).

El test será negativo cuando no encontremos los tubos germinales (otras especies de Candida).

### Resultados

La edad promedio de los 75 pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta media al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto 2009 fue de 71 años (Ver tabla 1).

Del cien por ciento de los pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto del 2009: un 42.7 % son del sexo masculino y un 57.3 % son del sexo femenino. (Ver tabla 2).

Respecto a la procedencia de los pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza de enero – agosto del 2009; un 9.3 % son oriundos de San Lucas, 2.7 % oriundos de Mojocoya, 10.7 oriundos de Yamparaez y un 77.3 % oriundos de Sucre (Ver tabla 3).

En la tabla 4 se observó que el 58.7 % de los pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al hospital Jaime Mendoza, obtienen sus ingresos económicos de ayuda familiar ya sea de sus hijos (as) o tal vez nietos (as) y el 41.3 % genera sus propios ingresos económicos.

La gran mayoría de los pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto 2009, tienen hábitos alimenticios un poco deficientes ya que estos consumen de uno a dos comidas al día además de que son alimentos poco nutritivos lo cual no favorece para su buena salud (Ver tabla 5).

Los pacientes de la tercera edad que asistieron a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto 2009, tienen poca frecuencia en cuanto a su higiene bucal ya que un el 57.3 % se realiza el aseo bucal Interdiario, el 26.7 % se realiza el aseo bucal de manera diaria y el 16 % se realiza el aseo bucal de manera semanal (Ver tabla 6).

También se debe señalar que el 42.7 % son analfabetos (as), el 46.7 % de los pacientes terminaron el ciclo básico y el 10.6 % culminaron la secundaria (Ver tabla 7).

En las muestras con tinción de gran se observaron una abundante cantidad de leucocitos y una abundante cantidad de células epiteliales los que nos hace sospechas, lo que nos evidencia la presencia de algún proceso inflamatorio en cavidad bucal (Ver tabla 8).

Con respecto a los microorganismos observados en la tinción de gram; en el 52 % de las muestras se observaron levaduras, hifas y pseudohifas de tipo Candida y en resto de las muestras se observaron cocos gram+; estafilococos, estreptococos, neumococos, cabe señalar que esta prueba es sencilla y no es específica para la identificación de hongos de Candida albicans para lo cual realizaremos cultivo en agar sabouraud. (Vertabla 9)

En el 61.3 % de las muestras se observó crecimiento de hongos tipo Candida y en el 38.7 % no se observó el crecimiento de hongos en un medio específico para hongos como es el medio agar sabouraud (Ver tabla 10). En la prueba del tubo germinativo (prueba diferencial para hongos del género Candida albicans) se pudo evidenciar que el 52 % de los pacientes dio positivo para Candida albicans y el 48 % negativo a esta prueba se debe señalar que esta prueba es específica para este tipo de hongo, (Ver tabla 11).

## Cuadros y tablas

Edad	Numero	Porcentaje
60 – 65	25	33.3 %
66 – 70	13	17.3 %
71 -75	7	9.3 %
76 – 80	13	17.3 %
81 - 85	10	13.3 %
86 – 90	3	4.0 %
91 – 95	4	4.3 %
Total	75	100 %

**Tabla 1** Universo de estudio según grupo etéreo. Hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Sexo	Numero	Porcentaje
Masculino	32	42.7 %
Femenino	43	57.3 %
Total	75	100 %

**Tabla 2** Universo de estudio según sexo. Hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Procedencia	Numero	Porcentaje
San lucas	7	9.3 %
Mojocoya	2	2.7 %
Yamparaez	8	10.7 %
Sucre	58	77.3 %
Total	75	100 %

**Tabla 3** Universo de estudio según procedencia. Hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Ingresos económicos	Número	Porcentaje
Ingresos propios	31	41.3 %
Ayuda familiar	44	58.7 %
Total	75	100 %

**Tabla 4** Universo de estudio según ingresos económicos hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Nº comidas al día	Numero	Porcentaje
1 comida al día	47	62.7 %
2 comidas al día	12	16 %
3 comidas al día	15	20 %
Más de 4 comidas al día	1	1.3 %
Total	75	100 %

**Tabla 5** Universo de estudio según nº de comidas al día Hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Higiene	Numero	Porcentaje
Diario	20	26.7 %
Interdiario	43	57.3 %
Semanal	12	16 %
Total	75	100 %

**Tabla 6** Pacientes según hábitos de higiene bucal. Hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Grado de instrucción	Numero	Porcentaje
Analfabetos	32	42.7
Básico	35	46.7
Secundaria	8	10.6
Profesional	0	0.0
Total	75	100

**Tabla 7** Universo de estudio según grado de instrucción. Hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Cantidad	Leucocitos %	Celulas epiteliales %
Escaso	17.3 %	24 %
Regular	21.3 %	16 %
Abundante	61.4 %	60 %
Total	100 %	100 %

**Tabla 8** Leucocitos y células epiteliales observados en tinción de Gram de frotis directo, en universo de estudio hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Microorganismos	Numero	Porcentaje
Levaduras, hifas y pseudohifas tipo Candida	39	52 %
Estafilococos	14	18.7 %
Estreptococos	15	20 %
Neumococos	7	9.3 %
Total	93	100 %

**Tabla 9** Microorganismos observados en tinción de Gram de frotis directo, en universo de estudio hospital “Jaime Mendoza” enero – agosto 2009

Cultivo	Número	Porcentaje
Positivo	46	61.3 %
Negativo	29	38.7 %
Total	75	100 %

**Tabla 10** Prevalencia de candida SPP por cultivo en agar Sabouraud hospital “Jaime Mendoza” Enero – agosto 2009

Tubo germinativo	Número	Porcentaje
Test positivo	39	52 %
Test negativo	36	48 %
Total	75	100

**Tabla 11** Identificación de candida Albicans por la prueba del tubo germinativo hospital “Jaime Mendoza” Enero – agosto 2009

## Análisis y discusión

La edad de este grupo etareo es un factor muy importante en este tipo de infección bucal, debido a los cambios fisiológicos, bajas defensas del organismo y los malos hábitos de higiene bucal.

Se debe señalar que más de la mitad de los pacientes dieron positivos para hongos tipo Candida cuando se realizó el cultivo en Agar Sabouraud (aislamiento primario) cabe resaltar que este medio de cultivo no es específico para Candida albicans.

Además debemos hacer notar que en la prueba del tubo germinativo se confirma que más de la mitad de los pacientes dieron positivo a esta prueba. Esta prueba es rápida y confiable para la identificación de Candida albicans.

De manera general podemos señalar que la mitad de los pacientes dieron positivo para este tipo de infección, lo que se debe tomar en cuenta es que este grupo etareo. La gran mayoría viven de manera precaria y sus hábitos alimenticios son deficientes debido a los bajos ingresos económicos que estos tienen.

Debemos también destacar la importancia de los cuidados que este tipo de pacientes necesita y requiere para la mejora de su salud.

**Conclusiones**

La candidiasis bucal es una infección que afecta principalmente a pacientes de la tercera edad debido a los cambios fisiológicos y bajas defensas del organismo propias de la edad, por lo tanto es de suma importancia el estudio de la Candidiasis Bucal y por ende el presente trabajo aborda uno de los problemas de salud más frecuentes, considerándose como universo potencial a las personas de la tercera edad que asisten al Hospital Jaime Mendoza de Enero – Agosto 2009.

En el presente estudio se determinó que existen factores preponderantes para la prevalencia de la candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad, entre los cuales podemos señalar los cambios fisiológicos y bajas defensas propias de la edad, los deficientes hábitos de higiene bucal, los malos hábitos alimenticios, los bajos ingresos económicos, el bajo grado de instrucción y otros que predisponen la infección por *Candida Albicans*.

Se determinó que la edad promedio de las personas de la tercera edad que asistieron al Hospital Jaime Mendoza es de 71 años y cuya procedencia son de las zonas periurbano de la ciudad de Sucre.

Se evidenció que los hábitos alimenticios de las personas de la tercera edad son precarios, esto se debe a los cambios fisiológicos y a los bajos ingresos económicos.

Se identificó que la mayoría de las personas de la tercera edad no culminaron los estudios secundarios, también la gran mayoría tienen deficientes hábitos higiénicos.

Se ha llegado a la conclusión que la Candidiasis bucal en personas de la tercera edad es muy frecuente y que en el 61.3 % de estos pacientes se observó crecimiento de hongos del genero *Candida* y el 38.7 % no observo crecimiento de hongos en el medio de cultivo Agar Sabouraud.

Se debe señalar que en la prueba del tubo germinativo el 52 % de los pacientes dieron positivo para hongos del genero *Candida albicans* y el 48 % dieron negativo para hongos.

**Recomendaciones**

Por lo que hasta aquí observado se recomienda lo siguiente:

Socializar el presente trabajo entre todos los centros médicos para que en función a la magnitud de este problema social se establezca como un examen rutinario la identificación de la *Candida Albicans* mediante las técnicas mencionadas anteriormente.

Estimular en las personas de la tercera edad a mejorar sus hábitos higiénicos, haciendo hincapié sobre el riesgo que implica el no tener buenos hábitos de higiene bucal.

Recomendar a las personas de la tercera edad el cuidado de su salud mediante la buena nutrición.

Establecer cuadros estadísticos sobre índices de prevalencia de las infecciones fúngicas en personas de la tercera edad.

Recomendar que para estudios posteriores de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad se tome en cuenta variables como tipo de enfermedades (diabetes, cáncer, insuficiencia renal, SIDA), el uso prolongado de antibióticos (antibioterapia) y quimioterapicos.

Establecer para estudios posteriores de candidiasis bucal como universo de estudio solo a pacientes con sospecha de candidiasis o clínica positiva.

### Agradecimiento

Los investigadores agradecen a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

### Referencias

Arenas R. Micología médica ilustrada. México DF, Interamericana-MacGraw-Hill, 1996.

Ceballos A. Micosis bucales. En: Ceballos A. Medicina bucal. Granada: Gráficas Anel; 1993.p.60-6.

Edwards Jr J.E, Bodey G.P, Bowden A, et al. International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. Clin Infect Dis 1997, 25: 43-59.

Evans E.G.V, Richardson M.D., Medical mycology. A practical approach. Oxford, Oxford University Press, 1989.

Eversole L.R., Lesiones blancas. En: Eversole L.R., Patología bucal, diagnóstico y tratamiento. La Habana: Científico-Técnica; 1983.p.27-8.

Gantier J. Chuquisaca Histórica, Primera edición.- "Editorial la Papelera". 1998.

Gran atlas de Bolivia segunda edicion 2009-12-07

López J, Jané E, Chimenos E y Roselló X. Actualización de la candidiasis oral. Arch Odont 1997; 13(5):259-71.

Negroni M. Enfermedades micóticas. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1999.p.363-8.

Negroni R. Lecciones de clínica micológica. Buenos Aires, La Agenda, 1997.

Oog G.S., Guarro J. Atlas of clinical fungi. Baarn/Reus, Centralbureau voor Schimmelcultures/Universitat Rovira i Virgili, 1995.

Quindós G, Pontón J. Candidiasis de la cavidad oral: Etiología, patogenia y diagnóstico de laboratorio. Med Oral 1996; 1: 85-95.

Quindós G, Pontón J. Hongos de interés oral. En: Bascones A (Coordinador General). Tratado de Odontología. Tomo I (1ª Ed.). Madrid, Trigo Ediciones, S.L., 1998: 561-568.

Rippon J.W. Medical Mycology. 3rd Ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 1988.

Rubio Calvo M. C., Rezusta A., Gil Tomás J., Benito Ruesca R. Perspectiva micológica de los dermatofitos en el ser humano. Rev Iberoam Micol 1999, 16:16-22.

Santana J. C. Candidiasis de la mucosa bucal. En: Santana J.C. Infección por el VIH en el complejo bucal. La Habana: Ciencias Médicas; 2000.p.73-87.

Santana J.C. Principales enfermedades infecciosas generales con complicaciones bucales. En: Santana J.C. Atlas de patología del complejo bucal. La Habana: Científico-Técnica.1985.p.137-9.



## Protocolo de control de calidad de la eficacia antibacteriana de los discos antibióticos para pruebas de susceptibilidad

CORDOVA-Mónica † & LOAYZA-Rissel

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence N° 51, Sucre- Bolivia.*

Recibido 27 de Marzo, 2014; Aceptado 03 de Agosto, 2014

### Resumen

Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de Bioquímica UMRPSFXCH, proporciona anualmente por la conducta de su susceptibilidad a los antibióticos balance de varias líneas variado, algunos con registros actualizados caducados. En esta situación, si el cuestionamiento de la eficacia de la actividad antibacteriana de los discos de antibióticos utilizados en ese laboratorio en 2011, está dentro de límites aceptables de las reglas del Instituto de Clínica y Laboratorios de Normas (NCCLS).

**Laboratorio de Microbiología, calidad, NCCLS**

### Abstract

Clinical Microbiology Laboratory at the Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences Biochemical of UMRPSFXCH, annually provides for the conduct of its susceptibility to antibiotics varied stock of various lines , some with expired date records. In this situation if the questioning of the effectiveness of the antibacterial activity of the antibiotic disks used in that laboratory in 2011 , is within acceptable limits of the rules of the Institute of Clinical and Laboratories Standards (NCCLS ) arises .It is argued that the effectiveness of the antibacterial activity of the antibiotic disks used is not in good condition for use by 50 % , and that do not meet the standards set by the NCCLS QC .

**Clinical Microbiology, quality, NCCLS**

**Citación:** CORDOVA Mónica & LOAYZA Rissel. Protocolo de control de calidad de la eficacia antibacteriana de los discos antibióticos para pruebas de susceptibilidad. Revista de Energía Química y Física 2014, 1-1:209-240

† Investigador contribuyendo como primer autor

## Introducción

Sucre, Capital Constitucional del Estado Plurinacional de Bolivia, donde se encuentra el Laboratorio de Microbiología Clínica perteneciente a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas dependiente de la UMRPSXFCH realiza anualmente actividades de atención al paciente, siendo los cultivos y los antibiogramas los análisis más frecuentes. Requiriéndose Control de Calidad de los Discos Antibióticos y medios de cultivo para la optimización de los resultados.

El antibiograma es un método de difusión en disco bajo estándares para su interpretación clínica, que tiene la finalidad de determinar la sensibilidad de las bacterias expuestas frente a los antibióticos y brindar al médico opciones de tratamiento farmacológico.

El Control de Calidad que se define como todos los mecanismos, técnicas, herramientas y actividades de acción operativa, indispensables para valorar la Eficacia, calidad y detectar la inactividad de los Discos Antibióticos.

La necesidad de realizar un estudio valorativo sobre la Eficacia de los Discos Antibióticos como Control de Calidad se hace necesario y oportuno para conocer la actividad antibacteriana en los discos antibióticos que dispone el Laboratorio de Microbiología Clínica, cuyas fechas de expiración incluyen el 2007, 2010, 2011, 2012, 2013, que están en condiciones óptimas de almacenamiento.

Por consiguiente surge el siguiente problema; ¿La Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de Sucre 2011, estará según los límites aceptables de la normativa del Instituto de Estándares Clínicos y de los Laboratorios NCCLS?.

Siendo el Objeto de estudio los Discos Antibióticos utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica y el Campo de acción la determinación de la Eficacia de la Actividad Antibacteriana; el método que utilizaremos recomendado por el Sub Comité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS está basado en el método originalmente descrito por Kirby-Bauer (método de Kirby-Bauer).

El Objetivo general propuesto para este estudio es Determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica .y para el cumplimiento del mismo se han planteado los siguientes Objetivos específicos:

Determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, empleando la técnica de difusión agar.

Establecer la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, empleando la técnica de difusión agar.

Relacionar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos con la fecha de expiración de los mismos.

Determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos tomando en cuenta la línea comercial.

Dando la respuesta al problema se formuló la siguiente hipótesis, la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos utilizados en el Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, no se encuentra en condiciones óptimas para su uso en un 50%, ya que no cumplen con las normas establecidas por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (NCCLS) del Control de Calidad.

Siguiendo el diseño metodológico se obtuvieron los resultados sobre la Eficacia Antibacteriana de los Discos del Laboratorio de Microbiología Clínica para realizar las recomendaciones oportunas y necesarias al responsable del laboratorio.

Paralelamente se elaboró un protocolo de Control de Calidad de Discos Antibióticos descrito en el estudio.

### Marco contextual

Bolivia, nombre oficial Estado Plurinacional de Bolivia, situada en la región central de Sudamérica. La superficie total del país es de 1.098.581 km<sup>2</sup> con una población de 8.989.046 habitantes. Actualmente Estado Plurinacional esta divide en 9 departamentos siendo Sucre la Capital Constitucional del Estado y La Paz Sede de Gobierno.

Chuquisaca tiene una superficie de 51.524 kilómetros cuadrados y una densidad demográfica de 8 habitantes por kilómetro cuadrado, su población citadina es alrededor de los 200.000 habitantes, es también conocida como ciudad de los cuatro nombres: Chuquisaca, Charcas, La Plata y Sucre, este último en homenaje al Mariscal Antonio José de Sucre primer presidente de la república de Bolivia.

Sucre Capital del Estado Plurinacional, se encuentra en un valle alto al sur de la sede de gobierno a 2.850 metros sobre el nivel del mar, declarado por la UNESCO “Patrimonio Cultural de la Humanidad” fundada en 1.538 al pie de los cerros SicaSica y Churuquilla, es una ciudad eminentemente universitaria y estudiantil, lo que impulsa social y económicamente a la población, de esta manera el problema del departamento es sobre todo la falta de estructura para un aumento de la productividad, no tendría una economía mas o menos estable si se omitiese la universidad y los diferentes centros de estudio, por lo tanto es importante que se impulse este factor, estas insuficiencias influyen en la economía baja de la mayoría de la población. (17)

### Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca

Fundada el 27 de marzo de 1624, en cumplimiento de la bula del Papa Gregorio XV, del 8 de agosto de 1621 y de la Real Cédula de Felipe III, del 2 de febrero de 1622.

El padre Juan Frías de Herrán su fundador le dio las bases para su funcionamiento y su primera reglamentación. La Universidad primero doctoró en Teología, organizándose posteriormente una facultad de leyes.

Juan José de Segovia nacido en Tacna, vivió en La Plata desde su más tierna infancia y se graduó como abogado en la Universidad de San Francisco Xavier, en 1785, en plena vigencia de la Universidad reformada. Luego de la expulsión de la Compañía de Jesús, se constituyó en el primer rector de origen criollo.

En 1798, el Rey Carlos IV de España, ordenó la dotación de la cátedra de Medicina, disponiendo por consiguiente la fundación de la Facultad de Medicina.

La influencia de la Universidad en la fundación de la República es indiscutible, en ella estudiaron y se formaron los hombres de la generación de 1809 forjadores del proceso revolucionario del Alto Perú y la América y precursores de la integración continental.

La Universidad ha realizado una positiva labor y ejercicio una efectiva participación en las grandes decisiones nacionales.

Particularmente en las materias de ley, así también como en la Real Academia Carolina, se formó la sociedad Colonial de clase alta de los siglos 17 y 18. Algunos de esos pupilos distinguidos, conocidos como los "Doctores de Charcas" fueron quienes llevaron adelante el movimiento libertario del 25 de Mayo de 1809 y otros lo llevaron a cabo en La Paz, Quito, Tucumán y Buenos Aires.

San Francisco Xavier está empeñado en servir al pueblo boliviano a través de la búsqueda de la definición de su identidad cultural y nacional, ayudando a encontrar soluciones adecuadas a los problemas sociales y económicos, poniendo a los estudiantes en contacto directo con la realidad del país, a fin de que con esta motivación se formen íntegramente para prestar un servicio autentico en bien de la comunidad.

Actualmente las Autoridades de nuestra Universidad son: Rector Ing. Walter Arízaga Cervantes y el Vicerrector Ing. Eduardo Rivero Zurita. (18)

### **Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas**

Por decreto supremo del 10 de noviembre de 1838, el General José Ballivian dispone de la creación de la Escuela de Farmacia, como materia farmacéutica y farmacia experimental dentro de la facultad de Medicina donde los profesionales ostentan 2 títulos: Medico-Farmacéutico.

En 1950 se plantea reformular el plan de estudios, enfocando la formación desde el punto de vista Bioquímico.

El año 1966 nace la escuela de Farmacia y Bioquímica, con 5 años de estudio y otorga los títulos de: Farmacéuticos y Bioquímicos Farmacéuticos.

El 24 de julio de 1970 por resolución del consejo Universitario N°58/70, se determina la creación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Desde 1986 se aprueba un nuevo currículo y se otorga los títulos de: Farmacéutico Bioquímico, con duración de 5 años y la opción de lograr el título de Farmacéutico con 4 años. La única modalidad de egreso hasta el año 1990 fue la Tesis de Grado. A partir de este año a la fecha, surge la opción de elegir el internado rotatorio evaluado o la tesis de grado.

El año 1998 en asamblea Docente-Estudiantil se determinó culminar con la carrera integrada de Bioquímica Farmacéutica y separar en. Carrera de Química Farmacéutica y Carrera de Bioquímica con 5 años de estudio en ambas.

Durante las gestiones 2004 a 2006 la comisión de evaluación de las carreras dependientes de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas trabajó permanentemente con el fin de participar en el proceso de evaluación externa con miras a la acreditación.

En fecha 28 de julio del 2006 las comisiones evaluadoras informan y recomiendan la acreditación de las dos carreras, emitiéndose la certificación de Acreditación por Resolución del Consejo de Secretarios Nacionales de CEUB N° 1356 para la Carrera de Bioquímica y N° 1357 para la carrera de Ciencias Químico Farmacéuticas en el mes de Septiembre del 2006.(17)

A partir de la gestión 2007 a 2009 empiezan con las mejoras tanto a nivel académico, como estructural, realizando en cada gestión autoevaluaciones, tanto del sector estudiantil como del sector Docente; para la mejora de la facultad. Así mismo, se procede con la remodelación de los laboratorios del instituto de Biología Molecular previo al proyecto aprobado en la gestión de la Dra. Jenny Duran.

En el año 2010 se procede a la separación y elección de las direcciones de carrera, siguiendo a una recomendación de la CEUB. En la misma gestión se hace la entrega del primer bloque de los laboratorios del instituto.

En mayo del 2011, se hace la entrega, del segundo bloque. Teniendo por concluir la fachada de los laboratorios y entrega de algunos mas.

En este momento se tiene el proyecto de sacar al mercado la sangre de cordero desfibrinada, ya que contamos con la crianza de corderos en Yotala de los cuales obtenemos la sangre la desfibrinamos y utilizamos para mejorar la calidad de los cultivos del laboratorio de microbiología clínica.

Actualmente en el año 2011 la facultad tiene como autoridades al Decano Dr. Juan Carlos Pizarro; como Directora de la carrera de Bioquímica la Dra. Mary Cruz Mójica; y Directora de la carrera de Químico Farmacéutica la Dra. Rosario Aliaga.

### **Carrera de Bioquímica**

#### **Visión**

La carrera de Bioquímica, acreditada nacional e internacionalmente como formadora de profesionales de alta calidad y competitividad, con capacidad investigativa e innovadora que contribuya a mejorar las condiciones de vida de la población en las áreas de su competencia de formar equipos multidisciplinarios para la solución de problemas de salud y el establecimiento de vínculos en el ámbito nacional e internacional para la generación de proyectos en investigación científica, innovación tecnológica y educación de pre y postgrado, con perfiles que respondan a las demandas de la sociedad.

#### **Misión**

Formar profesionales líderes de reconocida calidad, y valores éticos, capaces de investigar científicamente, desempeñarse en la aplicación e interpretación del análisis laboral, análisis de alimentos, preservación del medio ambiente, desarrollo industrial y contribuir al diagnóstico, pronóstico y seguimiento de problemas de salud prevalentes. Y emergentes en la región y el país. (17)

En cuanto al Laboratorio de Microbiología Clínica que hace dos años cuenta con una nueva estructura, es un laboratorio de enseñanza práctica que permite desarrollar conocimiento, aprendizaje; potencializar habilidades de los nuevos recursos humanos para el ejercicio de la profesión. En la última gestión académica el estudiante hace una rotación de 6 semanas, con una muestra determinada de pacientes supervisadas por el docente monitor, el cual aplica la práctica laboral en el marco de las exigencias actuales de la salud.

### Marco teórico

#### Discos de sensibilidad

##### Definición

Es aquel que resulta de la impregnación de una cantidad conocida de antibiótico en un disco de papel filtro, empleado en los métodos de susceptibilidad por difusión agar, utilizados para determinar la sensibilidad o no del microorganismo.

##### Método convencional para la difusión de discos

A medida que fueron apareciendo más agentes antimicrobianos disponibles para tratar las infecciones bacterianas. Antes que se dispusiera de la tecnología de micro dilución se necesitaba un método más práctico y conveniente para probar varios agentes antimicrobianos contra diferentes cepas bacterianas. Debido a esta necesidad se desarrolló la prueba de difusión de discos, como resultado del estudio pionero de Bauer, Kirby, Sherris y Turck, en 1966. (15)

Estos investigadores estandarizaron y correlacionaron el uso de discos de papel de filtro impregnados con antibióticos (discos de antibióticos) con la Concentración Mínima Inhibitoria para muchas cepas bacterianas.

En la prueba de sensibilidad por difusión con discos la resistencia a los antimicrobianos se detecta exponiendo los aislamientos bacterianos a discos antibióticos que se colocan en una placa de agar cuya superficie se ha sembrado con bacterias.

Cuando los discos contienen una concentración conocida de agente antimicrobiano, se colocan sobre la superficie de una placa recién sembrada, inmediatamente el agente empieza a difundirse y establece un gradiente de concentración alrededor del disco de papel. La concentración más alta es la más cercana al disco. (15)

Durante la incubación las bacterias se desarrollan en la superficie de la placa, excepto donde la concentración de antibióticos en el gradiente formado alrededor de cada disco es suficientemente alta como para inhibir el desarrollo. Después de la incubación, el diámetro del halo de inhibición alrededor de cada disco se mide en milímetros. (15)

##### Clasificación de los discos de sensibilidad

Los discos de sensibilidad están compuestos por antibióticos que son sustancias, bien producidas por microorganismos o bien sintéticas, que a bajas concentraciones tienen la capacidad para inhibir el desarrollo de bacterias o para destruirlas.

Están deben ser sustancias muy selectivas porque deben ser capaces de destruir a las bacterias sin destruir a las células o ser tóxicas para el organismo humano.

Son fármacos de elección para el control y la curación de infecciones bacterianas. (20)

Se clasifican en:

### **β-lactámicos**

Los antibióticos β-Lactámicos comparten un anillo central de 4 β-Lactam y su principal modo de acción es la inhibición de síntesis de la pared celular.

Anillos adicionales a la estructura o grupos agregados al anillo β-Lactam determina si el agente es penicilina, cefem, carbapenem, o monobactam. (16)

### **Penicilinas**

Las penicilinas son antibióticos derivados del moho u hongo *Penicilliumnotatum*. Las propiedades de este antibiótico fueron descubiertas en 1928 por el bacteriólogo británico Alexander Fleming, pero transcurrieron otros diez años hasta que, gracias al trabajo del bioquímico británico Ernst Boris Chain, del patólogo también británico Howard Walter Florey y de otros científicos, la penicilina pudo producirse en grandes cantidades. (19)

La penicilina actúa matando a las bacterias e inhibiendo su crecimiento; se trata de un antibiótico bactericida. Sólo puede destruir a los organismos que están creciendo y multiplicándose, no a los que se encuentran en estado latente. Es muy efectiva contra un amplio espectro de microorganismos responsables de diversas enfermedades, como los neumococos, los estreptococos, los gonococos, los meningococos, el bacilo *Clostridiumtetani* causante del tétanos y la espiroqueta responsable de la sífilis.

Este fármaco ha sido utilizado con éxito para tratar ciertos procesos que resultaban mortales antes de la era antibiótica, como la endocarditis bacteriana subaguda, la septicemia, la gangrena gaseosa, la gonorrea y la escarlatina. (19)

La penicilina es un antibiótico importante que deriva del moho *Penicilliumnotatum*. Es eficaz frente a una gran variedad de enfermedades producidas por bacterias, a las que destruye de forma directa o inhibiendo su crecimiento.

Las complicaciones tras la administración de penicilina o sus derivados no son frecuentes, pero sí pueden ser graves, como en el caso de las reacciones anafilácticas, la manifestación más grave de la reacción alérgica a la penicilina.

Las reacciones alérgicas son cruzadas para toda esta familia de fármacos (si aparecen tras la administración de uno de ellos, también aparecerán con el resto del grupo). Las reacciones alérgicas son mucho más graves tras la administración intravenosa que tras la toma oral. La sensibilización a la penicilina se pone de manifiesto mediante pruebas cutáneas de detección; las personas alérgicas a la penicilina deben llevar alguna identificación para evitar que se les administre este medicamento u otros de la familia. El problema de las resistencias bacterianas a la penicilina ha ido en aumento con el transcurso de los años, y ha hecho necesaria la búsqueda de antibióticos alternativos o bien el incremento de las dosis para conseguir el mismo efecto. (19)

El espectro de actividad de la penicilina primaria incluye no productores de  $\beta$ -lactamasa, gram positivos y algunos fastidiosos, y bacterias gram negativas. Las acilamina, penicilinas; ampicilina y amoxicilin, tienen actividad específica contra más especies de gram negativos, incluyendo miembros de la familia, Enterobacteriaceaeo productoras de  $\beta$ -Lactamasa. Carboxi-penicilinas (carbenicilina y ticarcilina) y ureido-penicilinas (mezlocilina y piperacilina) tienen un amplio y considerable espectro contra gram negativos, incluyendo actividad contra Pseudomonasspp.

Penicilinas penicilinasas resistentes (cloxacilina, dicloxacilina, meticilina, nafcilina y oxacilina) que tienen un espectro predominantemente gram positivo, incluyendo Staphylococcuspp. Productor de penicilinasas.(16)

### **Combinación de $\beta$ -Lactámicos / Inhibidor de $\beta$ -Lactamasa**

Estos agentes antimicrobianos incluyen una penicilina y un segundo agente que tiene una mínima actividad antibacteriana pero funciona como un agente inhibidor de algunas  $\beta$ -Lactamasas. Actualmente, tres inhibidores de  $\beta$ -Lactamasas están en uso: clavulanato, sulbactam, y tazobactam.(16)

### **Cefemes incluyendo Cefalosporinas**

Las cefalosporinas son antibióticos semisintéticos de amplio espectro y de estructura betalactámica, que actúan sobre las bacterias sensibles mediante la inhibición de la síntesis de la pared celular.

Su origen se debió al descubrimiento de la actividad antibiótica de un hongo, el Cephalosporiumacremonium. Se pudo comprobar que los cultivos de este hongo inhibían el crecimiento in vitro de Staphylococcus aureus y curaban las infecciones estafilocócicas y la fiebre tifoidea en el hombre.

El mecanismo de actuación de las cefalosporinas es de tipo bactericida (destruyen las bacterias susceptibles), y sólo es eficaz sobre las bacterias que se encuentran en fase de crecimiento. En función de su espectro de actividad estos antibióticos se han ido agrupando en distintas "generaciones". Entre las cefalosporinas de primera generación se pueden incluir, por ejemplo, la cefalotina, la cefazolina y la cefalexina.

En el grupo de las de segunda generación están la cefoxitina, el cefaclor y el cefonicid, y en el último grupo, las de tercera generación, destacan la cefotaxima y la ceftriaxona. (19)

Diferentes antibióticos cefemes, incluyendo cefalosporina, pueden tener un espectro de actividad algo diferente contra bacterias gram positivas y gram negativas. Estos agentes a menudo son llamados como "primera", "segunda", o "tercera" generación de cefalosporinas, basado en la extensión de su actividad contra la mayoría de bacterias gram negativas resistentes a antibióticos.

No todos los representantes de un grupo específico o generación necesariamente tienen el mismo espectro de actividad. Debido a estas diferencias de actividad un representante de cada grupo puede ser seleccionado para test de rutina. (16)



### Carbapenems

Carbapenems difieren ligeramente en estructura de las penicilinas y son mucho más resistentes a la hidrólisis por  $\beta$ -Lactamasa, lo que da a ellos un amplio espectro de actividad contra muchas bacterias gram positivas y gram negativas. (16)

### Monobactams

Estos antibióticos son los únicos que estructuralmente muestran una significativa actividad sólo contra bacterias gram negativas aeróbicas. Aztreonam es el único monobactam aprobado para uso por la FDA. (16)

### Glicopéptidos

Antibióticos Glicopéptidos comparten una compleja estructura química y el modo de acción es la inhibición de síntesis de la pared celular en sitios diferentes a los sitios de acción de los  $\beta$ -Lactámicos. La actividad de este grupo es dirigida primeramente a bacterias gram positivas. La vancomicina es un agente aceptado para tratamiento de infecciones por bacterias gram positiva en pacientes alérgicos a la penicilina y es útil para terapia en infecciones causadas por bacteria gram positivas  $\beta$ -lactamasa resistentes, por ej. *Staphylococcus aureus* y algún *Enterococcus* spp. (16)

### Aminoglicósidos

Miembros de este grupo de antibióticos inhiben la síntesis de proteínas bacterianas a nivel del ribosoma. Los aminoglicósidos son usados primeramente para tratar infecciones por bacterias aeróbicas gram negativas o en combinación sinérgica con antibióticos activos, en la pared celular contra algunos gram positivo resistentes, por ej.: *Enterococcus* spp. (16).

### Macrólidos

Macrólidos están estructuralmente relacionados a antibióticos que inhiben la síntesis proteica a nivel del ribosoma.

Hay varios miembros de esta clase actualmente en uso que pueden ser considerados para pruebas contra fastidiosos gram positivo o gram negativo.

Drogas de este grupo están estrechamente relacionadas entre sí, con pocas excepciones, solo es necesario probar de rutina la tetraciclina. (16)

### Tetraciclinas

Antibióticos de amplio espectro, de actividad primariamente bacteriostática, que actúan sobre los microorganismos sensibles inhibiendo la síntesis proteica. Sólo son eficaces cuando los microorganismos están en fase de crecimiento.

La primera tetraciclina que se descubrió fue la clorotetraciclina, en un caldo de cultivo de bacterias del género *Streptomyces*, mediante un proceso de fermentación. A partir de aquí se fueron encontrando otras tetraciclinas naturales y de éstas se obtuvieron los distintos derivados semisintéticos que se fueron buscando para aumentar la hidrosolubilidad, la absorción digestiva o para prolongar la vida media de los preparados naturales.

Su espectro de actividad es muy amplio, cubriendo tanto cocos Gram positivos y negativos, como bacilos Gram positivos y negativos.

La adquisición de resistencias a las tetraciclinas suele ser lenta y, en general, suele ser cruzada con el cloranfenicol y la eritromicina.

Normalmente se trata de fármacos de absorción oral que no deben ser administrados junto con las comidas, sobre todo con alimentos ricos en calcio que, al unirse a estos antibióticos, forman unos quelatos no absorbibles. (19)

Presentan diferentes tipos de efectos secundarios como trastornos digestivos y alteraciones hepáticas, hematológicas, renales y neurológicas, aunque son de destacar las alteraciones que producen a nivel óseo y dentario.

Las tetraciclinas se depositan en las áreas de calcificación de los huesos y de los dientes.

En estos últimos el depósito se origina en el esmalte y la dentina, dando lugar a hipo mineralización, hipoplasia y malformación del esmalte que se manifiesta como una pigmentación peculiar que, siendo en un principio de color amarillento, pasa después a adquirir un tinte pardusco, oscureciéndose poco a poco con la luz del sol. (19)

Estos trastornos son típicos de niños que han sido tratados con estos antibióticos antes de los 10 años, sobre todo cuando han sido administrados a madres gestantes o a recién nacidos. Algo similar ocurre en los huesos, pudiendo alterar el desarrollo del esqueleto fetal cuando se toman durante la gestación. Todo esto hace que su uso esté contraindicado durante el embarazo, así como en niños pequeños.

Entre los principales cuadros clínicos en los que están indicadas las tetraciclinas destacan la brucelosis; las salmonelosis gastrointestinales; las enfermedades producidas por espiroquetas del género *Borrelia*, como la fiebre recurrente; y las infecciones por clamidias y rickettsias. (19)

Las tetraciclinas inhiben la síntesis proteica a nivel del ribosoma de ciertas bacterias gram negativas y gram positivas. Las drogas en este grupo están estrechamente relacionadas y, con pocas excepciones, sólo la tetraciclina puede requerir ser probada de rutina. (16)

### Quinolonas

Familia de fármacos antibacterianos producidos por síntesis en laboratorio y formada por el ácido nalidíxico y sus derivados fluorados y no fluorados ofloxacina, norfloxacina, pefloxacina, ciprofloxacina y lomefloxacina.

Producen la muerte bacteriana al inhibir la actividad de la subunidad A de la enzima bacteriana ADN girasa, encargada de formar la hélice del ADN bacteriano. Algunas bacterias (estafilococos, pseudomonas) desarrollan resistencias frente a estos fármacos por mutación de la ADN-girasa o por impermeabilidad de la pared bacteriana a su penetración.

Todos se pueden administrar por vía oral. Presentan elevada actividad frente a bacilos gram-negativos, mediana actividad frente a estafilococos (especialmente ofloxacina y ciprofloxacina), muy escasa frente a estreptococos y nula con bacterias anaerobias.

La norfloxacina es utilizada muy frecuentemente como primera elección en infecciones urinarias. Son de gran utilidad en infecciones sistémicas (de origen urinario o intestinal) o localizadas (osteomielitis, otitis) por gram-negativos.

No deben emplearse en niños ni en gestantes porque pueden alterar el desarrollo de los cartílagos en crecimiento. Producen, en menos de un 5% de los pacientes, efectos secundarios leves de carácter gastrointestinal (diarrea, náuseas) o nervioso (insomnio, mareos). Pueden interferir con los fármacos broncodilatadores de la familia de las teofilinas y con la cafeína. (19)

Este grupo de compuestos incluye a un número de agentes estrechamente relacionados que funcionan primeramente por inhibición de la actividad de la DNA girasa de muchas bacterias gram negativas y gram positivas. Por algunas diferencias en el espectro se requiere probarlos individualmente. (16)

### Sulfonamidas y Trimetoprim

Este grupo de compuestos abarca varios agentes quimioterapéuticos con espectro similar de actividad resultante de la inhibición del metabolismo bacteriano. Sulfisoxazole es la sulfonamida más usada en el tratamiento de infecciones en el tracto urinario, y debe probarse *in vitro*. Sulfometoxazole es usualmente probada en combinación con trimetoprim. (16)

### Cepas ATCC

Son microorganismos de referencia cuya actividad antibacteriana ha sido verificada para cada disco antibiótico, por lo cual es empleada en el Control de Calidad de los mismos.

Estas son:

### Staphylococcus aureus 25923

El *Staphylococcus aureus*, conocido comúnmente como estafilococo aureus o dorado, es una bacteria anaerobia facultativa gram positiva productora de coagulasa y catalasa que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, que no infectadas, por ella. (24).

#### Cápsula

Se han reportado casos de cepas de *S. aureus* que se encuentran recubiertas por una capa de polisacáridos externos, la cual recibe el nombre de slime o cápsula mucoide, que incrementa su capacidad de adherencia, así como refuerza el efecto antifagocítico. (24).

### Escherichiacoli 25922

La *Escherichiacoli* (pronunciado /eske'rikia 'koli/), también conocida por la abreviación de su nombre, *E. coli*, es quizás el organismo procarionta más estudiado por el ser humano. Se trata de una enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras, pero se lo puede encontrar en todos lados, dado que es un organismo ubicuo.

Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichiacoli*, en honor a su descubridor.

Es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular. (24)

Aplicación.- Ambas bacterias previa su purificación son usadas como reactivo para el control de calidad; tanto de medios de cultivo, como en discos antibióticos. Aplicado en la presente investigación. (24).

### Control de calidad

El Control de Calidad se define como todos los mecanismos, técnicas, herramientas, y actividades de acción operativa, que realizamos para evaluar los requisitos, que se deben cumplir respecto a la calidad de los Discos Antibióticos y a la vez detectar la presencia de errores. (1) y (4)

Para controlar la calidad de un producto se realizan inspecciones o pruebas de muestreo para verificar que las características del mismo sean óptimas. El único inconveniente de estas pruebas es el gasto que conlleva el control de cada producto fabricado, ya que se eliminan los defectuosos, sin posibilidad de reutilizarlo. (4)

Este control nos indica que tan bueno es nuestro trabajo y establece mecanismos para asegurar la generación de información de utilidad clínica rápida y segura. Este concepto incluye entrenamiento y calificación del personal, evaluación de los reportes, rapidez y seguridad diagnóstica, certificación de los laboratorios, controles externos, etc. (1).

El Control de Calidad en el laboratorio tiene como objetivo, que el producto final del trabajo tenga un grado aceptable de seguridad, de conformidad con los límites establecidos. Debido a que la mayoría de los resultados en microbiología son producto de interpretaciones y evaluación de reacciones bioquímicas de seres vivos, donde la capacidad y experiencia del evaluador tienen un gran valor.

Los cálculos de coeficientes de variación y desviaciones estándares que son parte de funciones analíticas, tienen poca aplicación en el laboratorio de microbiología. Es por ello que algunos expertos consideran que el Control de Calidad en microbiología es más un arte que una ciencia. (2)

### Tipos de control de calidad

- Control de calidad de los medios de cultivo.
- Control de calidad de reactivos.
- Control de calidad de tintes.
- Control de calidad de antisueros.
- Control de calidad de los Discos de Sensibilidad a los Antibióticos. .
- Control de calidad de equipos y materiales de trabajo.
- Control de calidad del agua destilada. (3)

### Control de calidad de los discos de sensibilidad

Las metas de un programa de Control de Calidad van destinadas a monitorear: la precisión del procedimiento de la prueba de susceptibilidad. (2)

Es necesario emplear cepas control para supervisar la exactitud y fiabilidad de la metodología, debido también al gran número de variables que pueden afectar los resultados. (13)

Se quiere resaltar los aspectos de la Eficacia de la Actividad de los Discos Antibióticos en la prueba de sensibilidad a los antibióticos por difusión simple en agar, utilizando Discos de Sensibilidad, ya que es la prueba de mayor utilidad en nuestro medio.

Es importante tener presente que ésta prueba ha sido designada exclusivamente para examinar microorganismos de rápido crecimiento, utilizando la normativa Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. (NCCLS M2-A6).

Este método no es útil para organismos fastidiosos, de crecimiento lento o para anaerobios. El método de difusión simple en agar es sin lugar a dudas el sistema de mayor uso para la realización de la sensibilidad bacteriana. (2)

### Método de Difusión de Kirby Bauer

Este es un método cualitativo, que nos permite valorar la sensibilidad de los discos antibióticos a partir de los halos de inhibición obtenidos y comparados con otros de referencia especificados en el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, en presencia de cepas bacterianas American Type Culture Collection. En el presente trabajo de investigación será empleado este método para el Control de Calidad de los discos en el laboratorio de microbiología clínica. (11)

El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MuellerHinton previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración.

Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano.

Posteriormente se realiza una medición del radio de los halos de inhibición y se compara con los de referencias especificadas en el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio.

Si los halos de inhibición son menores a los de referencia se puede inferir en la caída de la actividad del antibiótico, por el contrario, el aumento de los halos obtenidos con los de referencia significaría un aumento en la dosis contenida en el disco. (12)

Los pasos para el método de difusión agar son:

**Preparación del Inóculo**, a partir de una placa de cultivo incubada de 18 a 24 horas, coger varias colonias con un asa y ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland 0.5 en suero fisiológico. Agitar en un agitador "vortex" durante 15-20 segundos.

**Inoculación de las Placas**, antes de que transcurran 15 minutos de haberse ajustado el inóculo, introducir un Hisopo dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo.

Inocular las placas de Mueller-Hinton completamente, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consigue deslizando el hisopo por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándola por último por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

**Dispensación de los Discos**, colocar los discos con los dispensadores o manualmente con pinzas estériles. Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que deben presionarse ligeramente sobre la superficie del agar. No deben situarse a menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición. Para placas de 150 mm no se emplearán más de 12 discos y para las de 100 mm no más de 6 discos.

Incubar las placas invertidas (agar en la parte superior), en grupos no superiores a 5 placas, a 35°C en atmósfera aeróbica antes de que transcurran 15 minutos.

**Lectura de los Resultados**, después de 18 horas de incubación leer el diámetro de las zonas de completa inhibición con un pie de rey o regla. (13)

#### **Cepas American Type Culture Collection (ATCC) empleadas para el control de Discos Antimicrobianos**

Para determinar la eficacia de la actividad de los Discos Antibióticos para el Control de Calidad, se emplean cepas ATCC (American Type Culture Collection)

Adicionalmente, se pueden utilizar cepas de referencia que son resistentes a ciertos antibióticos, como *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923, las cuales son  $\beta$ -lactamasa-positivas, *S. aureus* ATCC 43300 que es metilina-resistente, o *E. faecalis* ATCC 51299 que es vancomicina-resistente y posee un alto nivel de resistencia a aminoglicósidos.

AGENTE ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DISCO	Escherichia coli ATCC* 25922	Staphylococcus aureus ATCC* 25923	Pseudomonas aeruginosa ATCC* 27853	Escherichia coli ATCC* 35218
Telithromycin	15 ug		24-30		
Tetracycline	30 ug	18-25	24-30		
Ticarcilin	75 ug	24-30		21-27	6
Ticarcilin-clavulanic acid	75/10 ug	24-30	29-37	20-28	21-25
Tigecycline	15 ug	20-27	20-25	09_13	
Tobramycin	10 ug	18-25	19-29	19-25	
Trimethoprim	5 ug	21-28	19-26		
Trimethoprim-sulfamethox	1,25/23,75 ug	23-29	24-32		
Trospectomycin	30 ug	10_16	15-20		
Trovafloxacin	10 ug	26-36	29-35	21-27	
Ulfloxacin (prulifloxacin)	5 ug	32-38	20-26	27-33	
Vancomycin	30 ug		17-21		

AGENTE ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DISCO	<i>Escherichia coli</i> ATCC* 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC* 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC* 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC* 35218
Amikacin	30 ug	19-26	20-26	18-26	
Amoxicilin-clavulanic acid	20/10 ug	18-24	28-36		17-22
Ampicilin	10 ug	16-22	27-35		6
Ampicilin-sulbactam	10/10 ug	19-24	29-37		13-19
azithromycin	15 ug		24-26		
Azlocilin	75 ug			24-30	
Aztreonam	30 ug	28-36		23-29	
Carbenicilin	100 ug	23-29		18-24	
Cefactor	30 ug	23-27	27-31		
Cefamandole	30 ug	26-32	26-34		
Cefazolin	30 ug	21-27	29-35		
Cefdinir	5 ug	24-28	25-32		
Cefditoren	5 ug	22-28	20-28		
Cefepime	30 ug	31-37	23-29	24-30	
Cefetamet	5 ug	23-27			
Cefixime	30 ug	26-32	25-34		
Cefmetazole	30 ug	25-29	22-28		
Cefonicid	75 ug	28-34	24-33	23-29	
Cefoperazone	30 ug	28-34	17-23		
Cefotaxime	30 ug	23-29	23-29		
Cefotetan	10 ug	23-28	19-25		
Cefoxitin	30 ug	21-27	27-33		
Cefpodoxime	30 ug	26-34	26-35		
Cefprozil	30 ug	21-27	27-33		
Ceftaroline	30 ug	26-34	26-35		
Ceftazidime	30 ug	25-32	16-20	22-29	
Ceftibuten	30 ug	27-35			
Ceftizoxime	30 ug	30-36	27-35	12_17	
Ceftobiprole	30 ug	30-36	26-34	24-30	
ceftriaxone	30 ug	29-35	22-28	17-23	
Cefuroxime	30 ug	20-26	27-35		
Cephalothin	30 ug	15-21	29-37		
Chloramphenicol	30 ug	21-27	19-26		
Cinoxacin	100 ug	26-32			
Ciprofloxacin	5 ug	30-40	22-30	25-33	
Clarithromycin	15 ug		26-32		
Clindamycin	5 ug	31-40	28-37	28-35	
Colistin	10 ug	11_17	24-30	11_17	
Daptomycin	30 ug		18-23		
Dirithromycin	15 ug		18-26		
Doripenem	10 ug	27-35	33-42	28-35	
Doxycyclina	30 ug	18-24	23-29		
Enoxacin	10 ug	28-36	22-28	22-28	

AGENTE ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DISCO	<i>Escherichia coli</i> ATCC* 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC* 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC* 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC* 35218
Ertapenem	10 ug	29-36	24-31	13-21	
Erythromycin	15 ug		22-30		
Faropenem	5 ug	20-26	27-34		
Fleroxacin	5 ug	28-34	21-27	12_20	
Fosfomicin	200 ug	22-30	25-33		
Gerenoaxacin	5 ug	28-35	30-36	19-25	
Gatifloxacin	5 ug	30-37	27-33	20-28	
Gemifloxacin	5 ug	29-36	27-33	19-25	
Gentamicin	10 ug	19-26	19-27	16-21	
Grepafloxacin	5 ug	28-36	26-31	20-27	
Iclaprim	5 ug	14-22	25-33		
Imipenem	10 ug	26-32		20-28	
Kanamycin	30 ug	17-25	19-26		
Levofloxacin	5 ug	29-37	25-30	19-26	
Linezolid	30 ug		25-32		
Linopristin-flopristin	10 ug		25-31		
Lomefloxacin	10 ug	27-33	23-29	22-28	
Loracarbet	30 ug	23-29	23-31		
Mecilinam	10 ug	24-30			
Meropenem	10 ug	28-34	29-37	27-33	
Methicilin	5 ug		17-22		
Mezlocilin	75 ug	23-29		19-25	
Minocycline	30 ug	19-25	25-30		
Moxolactam	30 ug	28-35	18-24	17-25	
Moxifloxacin	5 ug	28-35	28-35	17-25	
Nafcilin	1 ug		16-22		
Malidix acid	30 ug	22-28			
Netilmicin	30 ug	22-30	22-31	17-23	
Nitrofurantoin	300 ug	20-25	18-22		
Norfloxacin	10 ug	28-35	17-28	22-29	
Ofloxacin	5 ug	29-33	24-28	17-21	
Oxacilin	1 ug		18-24		
Penicillin	10 units		26-37		
Piperacilin	100 ug	24-30		25-33	12_18
Piperacilin-tazobactam	100/10 ug	24-30	27-36	25-33	24-30
Polymyxin B	300 units	13-19		14-18	
Quinupristin-dalfopristin	15 ug		21-28		
Razupenem	10 ug	21-26			
Rimfapin	5 ug	08_10	26-34		
Sparfloxacin	5 ug	30-38	27-33	21-29	
Streptomycin	10 ug	12_20	14-22		
Sulfisoxazole	50 ug or 300 u	15-23	24-34		
Teicoplanin	30 ug		15-21		
Telavancin	30 ug		16-20		

**Tabla 1** Cepas empleadas para la eficacia de la actividad antibacteriana según las NCCLS descritas a continuación

CEPA	GENERO Y ESPECIE	FUNCION DE MONITOREO QUE CONTROLA
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	La actividad de antimicrobianos para gram negativo  •El pH del medio mueller hinton
ATCC 25923	<i>S. aureus</i>	• La actividad de antimicrobianos para gram positiva
ATCC 35218	<i>E. coli</i>	•La actividad de antimicrobianos con inhibidores de beta lactamasas  •Cepa control positivo productora de BLEA
ATCC 29212	<i>E. faecalis</i>	•Concentración de timina y timidina del medio Mueller hinton
ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i>	•Concentración de cationes bivalentes del medio mueller hinton  (Ca, Mgy Zn).  •La actividad de antimicrobianos para <i>Pseudomonas</i>
ATCC 51299	<i>E. faecalis</i>	Cepa control positivo vancomicina y teicoplanina Resistencia fenotipo VAN A
ATCC 43300	<i>S. aureus</i>	Cepa control positivo

**Tabla 2** Cepas utilizadas para el control de calidad interno según el monitoreo

### Causas por las cuales el disco pierde sensibilidad

- Contaminación u otros cambios en la cepa control.
- Incorrecta temperatura, tiempo o atmósfera de incubación.
- Pérdida de la potencia del disco durante su transporte, su manejo o su almacenaje en el laboratorio.

Si el pH es muy bajo, ciertos medicamentos pierden potencia (por ej. Aminoglucosidos, Quinolonas y macrólidos), mientras otros agentes pueden presentar excesiva actividad (por ej. tetraciclinas). Si el pH es muy alto, puede esperarse efectos opuestos.

El medio que contiene excesiva cantidad de Timidina o Timina puede invertir los efectos inhibitorios de sulfonamidas y trimetoprim, dando zonas más pequeñas, menos nítidas o ninguna zona., lo que podría resultar en un falso informe de resistencia.

La variación en cationes divalentes, principalmente Magnesio y Calcio, afecta los resultados de ensayo de aminoglicosidos y tetraciclinas con cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Un contenido excesivo de cationes reduce el tamaño de las zonas, mientras que el bajo contenido podría resultar en un tamaño inaceptable de la zona de inhibición.(16)



### Factores que influyen en la prueba de sensibilidad antibiótica por el método de difusión en agar

Los resultados de una prueba de sensibilidad a los antibióticos por el método de la difusión del disco pueden ser influenciados por una gran cantidad de variables.

Algunos de los factores, tales como la densidad del inóculo y la temperatura de la incubación son fáciles de controlar, pero el laboratorio debe estar al tanto de otras variables que pueden afectar el resultado. Todo lo anterior justifica un estricto Control de Calidad, el cual debe ser parte del procedimiento rutinario del laboratorio. (2)

### Factores que influyen en la prueba de sensibilidad antibiótica

Diferentes factores modifican la sensibilidad de los antibióticos como se puede observar en la tabla siguiente:

Factor	Influencia
Densidad del inóculo	Zonas más grandes con inóculo ligero y zonas más pequeñas con inóculo grueso
Retraso en la incubación	Si después del aplicar el disco, el plato no es colocado pronto en la incubadora, el resultado podría ser halos de inhibición más pequeños.
Temperatura de la incubación	Temperaturas < 35 °C producen zonas más grandes de inhibición.
Tiempo de la incubación	16-18 horas es lo ideal; menos tiempo no da resultados confiables. Otros (MERSA) requieren 24 horas exactas.
Tamaño de la placa	Placas más pequeñas acomodan menos discos
Profundidad del medio del agar	Los medios gruesos producen zonas de inhibición pequeñas y las delgadas zonas grandes.
Espacio entre los discos	Evita el montaje de zonas de inhibición
Potencia de los discos	El deterioro (mala conservación) de los discos reduce el tamaño de la zona.
Composición del medio	Afecta el índice de crecimiento, la difusión de antibióticos y la actividad de antibióticos
PH ácido del medio	Con Tetraciclina, Novobiocina, y Metilicina, producen zonas grandes.
PH alcalino del medio	Los Aminoglicosidos y Eritromicina, producen zonas más grandes.
Incubación en CO <sub>2</sub>	Aumenta el tamaño de la zona de la Tetraciclina y Metilicina.
Adición de Timidina	Disminuye la actividad del Trimethoprim
La adición de sangre defibrinada	Disminuye la actividad de Sulfamidas
En agar chocolate decrece la actividad de	Sulfamidas, Trimethoprim y Aminoglicosidos
Lectura de zonas	Errores subjetivos en la determinación de bordes claros
Agentes como la gelatina, calcio, magnesio y hierro	Disminuyen la difusión de la Tetraciclina y Gentamicina

**Tabla 3** Factores que influyen en la prueba de sensibilidad antibiótica

## **Factores técnicos relacionados con el operador que influyen en el tamaño de la zona en el método de difusión por discos**

### **Densidad del inóculo**

Si el inóculo es muy poco denso, las zonas de inhibición serán de mayor tamaño aunque no varié la sensibilidad del microorganismo. En tales casos, pueden tomarse como sensibles cepas, que son relativamente resistentes.

Por el contrario, si el inóculo es muy denso, el tamaño de las zonas disminuirá y es posible que se tomen como resistentes cepas que son sensibles. Generalmente, los mejores resultados son los que se obtienen eligiendo un volumen de inóculo que de un crecimiento casi confluyente.

### **Momento en que se colocan los discos**

Si después de sembrarlas con la cepa problema, se dejan las placas a temperatura ambiente durante más tiempo del previsto, los microorganismos del inóculo pueden multiplicarse antes de que se hayan colocado los discos. Esto da lugar a una disminución del diámetro de la zona y a que se califique de resistente una cepa que de hecho es sensible.

### **Temperatura de incubación**

En las pruebas de sensibilidad la incubación se hace normalmente a 35° C. para obtener un crecimiento óptimo. Si se reduce la temperatura el tiempo necesario para obtener un crecimiento efectivo se prolonga y se producen zonas de inhibición más grandes. Cuando se evalúa la sensibilidad a la Meticilina (oxacilina) de una cepa de *Staphylococcus aureus* heteroresistente, la porción resistente de la población puede detectarse a 35°C. a temperaturas más altas, todo el cultivo parece ser sensible.

A 35°C o menos, en la zona de inhibición aparecen colonias resistentes. Estas son más visibles si se deja la placa durante varias horas a la temperatura ambiente antes de leer el resultado. Tales colonias deben identificarse siempre para determinar si son o no contaminantes.

### **Tiempo de Incubación**

En casi todas las técnicas el periodo de incubación está comprendiendo entre 16 y 18 horas. En situaciones de urgencia, sin embargo, se puede facilitar un informe provisional a las seis horas, pero no se recomienda hacer esto sistemáticamente; el resultado debe confirmarse siempre al término del periodo de incubación ordinario.

Tamaño de la placa, Espesor del medio de Agar y Separación de los Discos Antibióticos:

Las pruebas de sensibilidad se suelen efectuar en placas de 9 a 10 cm de diámetro y con 6 a 7 discos de antibiótico como máximo en cada placa. Si hay que evaluar un mayor número de antibióticos, es preferible utilizar dos placas o una placa de 14cm.

Si la capa de agar es muy fina pueden formarse zonas de inhibición demasiado grandes, y viceversa. Las pequeñas variaciones del espesor de la capa de agar tienen efecto. La separación adecuada de los discos es esencial para evitar que se superpongan las zonas de inhibición o se deformen cerca del borde de las placas.

### **Actividad de los discos de antibiótico**

El diámetro de la zona de inhibición es proporcional a la cantidad de medicamento que contiene el disco.

Si la potencia del fármaco se reduce por deterioro durante el almacenamiento, la zona de inhibición acusará una disminución correspondiente de tamaño.

Se puede aplicar métodos estandarizados para valorar la calidad de la actividad de los discos antibióticos según normas de la CLSSI motivo de estudio de la presente investigación.

#### Composición del Medio:

El medio influyente en el tamaño de la zona por su efecto en el ritmo de crecimiento del microorganismo, en la difusión del antibiótico y en la actividad de este. Es esencial utilizar el medio apropiado para cada método. (15)

#### Diseño metodológico

##### Tipo de estudio

Es un estudio analítico, descriptivo, observacional y transversal.

Analítico, porque nos permitió indagar e investigar al objeto de estudio, para conocer la causa de la ineficacia de la Actividad de los Discos Antibióticos.

Descriptivo porque nos permitió caracterizar y señalar la Eficacia de los Discos Antibióticos según parámetros de las normas de las CLSSI.

Observacional porque nos permitió observar todo el proceso de la investigación. Transversal porque los datos se obtuvieron a partir de un tiempo determinado hacia adelante

#### Variables

##### Determinación de Variables Definición Conceptual

##### Actividad antibacteriana

Es la capacidad que tienen los Discos Antibióticos para producir la inhibición de los microorganismos alrededor de los mismos.

##### Registro de la fecha de expiración de los Discos Antibióticos

Es el tiempo establecido en mes y año otorgado por el fabricante para denotar la actividad límite de los Discos Antibióticos, para ser empleados en las pruebas de susceptibilidad.

##### Línea comercial de los Discos Antibióticos

Es el nombre de la industria Farmacéutica donde se elaboran los Discos Antibióticos.

##### Definición Operacional

##### Actividad antibacteriana de los Discos Antibióticos

La actividad se determinará empleando Discos Antibióticos para inhibir el crecimiento de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante métodos de difusión agar, los cuales serán comparados con parámetros de referencia de la NCCLS; obteniéndose las siguientes categorías:

- Dentro de los parámetros referencia
- Fuera de los parámetros de referencia.
- Ausencia de la actividad antibacteriana.

### **Fecha de expiración de los Discos Antibióticos**

Es el tiempo de vida útil establecido por el fabricante, en el cual los Discos Antibióticos conservan sus características y su potencia. Obtendremos la fecha de expiración de la información comprendida en la etiqueta de cada Disco Antibacteriano, clasificándolos en:

- Discos Antibióticos Expirados
- Discos Antibióticos No expirados

### **Línea comercial de los Discos Antibióticos**

La línea comercial de los discos antibióticos, proviene de la empresa en la que fueron elaborados y estos discos pueden variar en sus características dependiendo de las condiciones en las que fueron procesados. Por ello evaluaremos la eficacia de la actividad antibacteriana, en dos líneas como ser:

- Britania
- Bioanalyse
- Oxoide
- Valtex

### **Fijación de límites**

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Experimental de Biología dependiente de la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011.

El tiempo de ejecución correspondió a 11 meses comprendidos entre diciembre 2010- Octubre 2011.

### **Muestra**

La muestra estuvo comprendida por 45 discos antibióticos del laboratorio de Microbiología Clínica de la facultad Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas.

### **Procesamiento de la información**

Para la obtención de los resultados y garantizar la validez de los mismos se realizó el control de calidad de las cepas ATCC, material de vidrio y esterilización y pH del MuellerHinton y posteriormente se ejecutaron las pruebas de susceptibilidad para determinar la eficacia antibacteriana de los discos.

### **Control de Calidad**

Previo a la ejecución de la metodología empleada en la determinación de la eficacia de la actividad antibacteriana de los discos antibióticos se efectuó un control riguroso de la pureza de las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichiacoli* ATCC 25922, del lote de cajas petri, el pH del medio de MuellerHinton y la altura de 4 mm de los medios de cultivo para asegurar el control de calidad de los Discos Antibióticos.

Para determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos, se empleó el Método de Kirby Bauer

### **Control de la Calidad de las cepas ATCC**

Las cepas empleadas para el control de calidad fueron el *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichiacoli* ATCC 25922.

Las cepas fueron enriquecidas en caldos BHI y posteriormente resembradas en Agar Sangre y Agar MC CONKEY con el fin de obtener colonias aisladas a partir de las cuales se realizó las pruebas de identificación para verificar su género y especie.

Para conservar las cepas por tiempos prolongados fueron refrigeradas a temperaturas <de 20°C

### **Control de la Calidad del Medio de cultivo Mueller Hinton**

Para el MuellerHinton se valoró el pH, la profundidad y esterilidad.

El agar Mueller - Hinton se preparó a partir del reactivo comercial deshidratado y de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Para determinar el pH del medio se empleó papel indicador de pH por una parte y por otra se empleó una cepa Escherichiacoli ATCC25922 frente a discos de: Gentamicina y Tetraciclina. Si los medios de cultivo tienen un pH óptimo, los halos de inhibición para gentamicina 10ug. = 19 – 26 mm y tetraciclina 30ug. = 18 – 25 mm. El agar deberá tener un pH entre 7,2 y 7,4 después de gelificar a temperatura ambiente.

Para medir el pH del MuellerHinton se autoclavó y enfrió en un baño de agua a 45 - 50°C.

Para determinar la profundidad de agar en la caja petri, se empleó un portaobjeto graduado a 4 mm de su borde inferior el cual se sumergió en el medio o en el agar depositado en la caja petri antes de su agarización.

El MuellerHinton se enfrió a temperatura ambiente hasta su agarización completa, aquellas unidades de agar que no fueron utilizadas ese día se almacenaron en el refrigerador (2 - 8° C).

Para determinar la esterilidad de los medios se tomó una muestra representativa de cada lote de placas y llevo a incubación a 37°C por 24 a 48 horas para verificar ausencia de colonias contaminantes.

### **Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos**

El procedimiento empleado para determinar la Eficacia de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos consistió en:

- Obtención del inóculo: Se reconstituyó las cepas ATCC previamente identificadas en Caldo BHI, Caldo Soya Tripticasa o Agua Peptonada, para su enriquecimiento a una temperatura de 37°C por 24 horas; partir del cual se obtuvo una suspensión del microorganismo enriquecido en 2 ml solución fisiológica.
- Estandarización del inóculo: Se estandarizo el inóculo obtenido, comparando con el patrón de turbidez 0,5McFarland hasta obtener la misma turbidez por comparación.
- Siembra del inóculo: Se introdujo un hisopo estéril en el tubo que contuvo al inóculo estandarizado, se escurrió por las paredes y se procedió a la siembra del medio MuellerHinton en tres direcciones, haciendo girar la caja petri en un ángulo de 65°, esto permitió la distribución homogénea del inóculo.

- Selección de los Discos: Se procedió a atemperar los discos antibióticos dos horas previas para que adquieran la temperatura ambiente antes de ser utilizados. Se empleó una pinza estéril para depositar los discos sobre la superficie del medio. Se utilizó 4 a 5 discos por cada caja petri de 90mm, la distancia entre cada disco debe ser de 2,5 cm y del disco al borde de la caja de 2cm. Una vez colocado el Disco de Sensibilidad no se movido, porque el disco difunde inmediatamente sobre el agar.
- Incubación de los medios de cultivo: Se llevó la caja petri con el medio sembrado y los discos seleccionados a la estufa de incubación a 37°C durante 24 a 48 horas.
- Lectura e interpretación de los resultados: Se empleo un calibre o regla para medir los halos de inhibición formados después de la incubación y se registro en una ficha de laboratorio para luego ser comparados con los valores de referencia del NLCCS. (7)

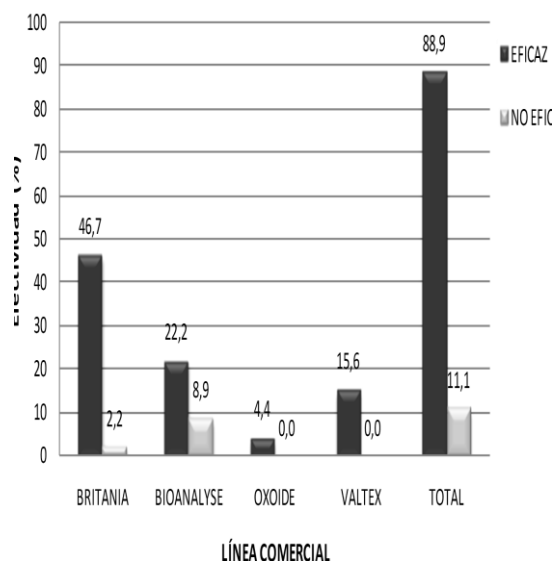
## Resultados

A continuación tenemos los resultados de la Eficacia de los Discos Antibióticos valorados con la cepa Escherichiacoli ATCC 25922 y Staphylococcusaureus ATCC 25923.

Línea Comercial	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Britania	21	46,7	1	2,2	22	48,9
Bioanalyse	10	22,2	4	8,9	14	31,1
Oxoid	2	4,4	0	0,0	2	4,4
Valtex	7	15,6	0	0,0	7	15,6
Total	40	88,9	5	11,1	45	100,0

p= 0,0421

**Tabla 4** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de la líneas comerciales frente a la Escherichiacoli ATCC 25922del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



**Gráfico 1** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de la líneas comerciales frente a la Escherichiacoli ATCC 25922del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

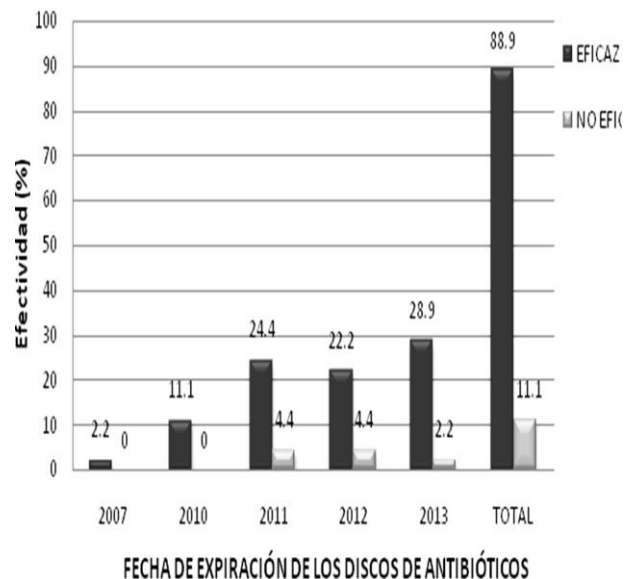
De la tabla 5 y el grafico 2 Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a las líneas Britania, Bioanalyse, Valtex, Oxoide; el 88.9% es eficaz y el 11.1% no eficaz frente a la cepa de Escherichiacoli ATCC 25922.

Teniendo los discos antibióticos de la línea Britania un alto porcentaje 46,7% y la línea Oxoide un 4,4% más bajo. Estadísticamente se encontró significancia  $p=0,0421$  ( $<0,05$ ) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la línea comercial y la actividad antibacteriana.

Fecha Expiración	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2007	1	2,2	0	0	1	2,2
2010	5	11,1	0	0	5	11,1
2011	11	24,4	2	4,4	13	28,9
2012	10	22,2	2	4,4	12	26,7
2013	13	28,9	1	2,2	14	31,1
Total	40	88,9	5	11,1	45	100,0

$p=0,7265$

**Tabla 5** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos según fecha de expiración frente a la Escherichiacoli ATCC 25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



**Gráfico 2** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración frente a la Escherichiacoli ATCC 25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

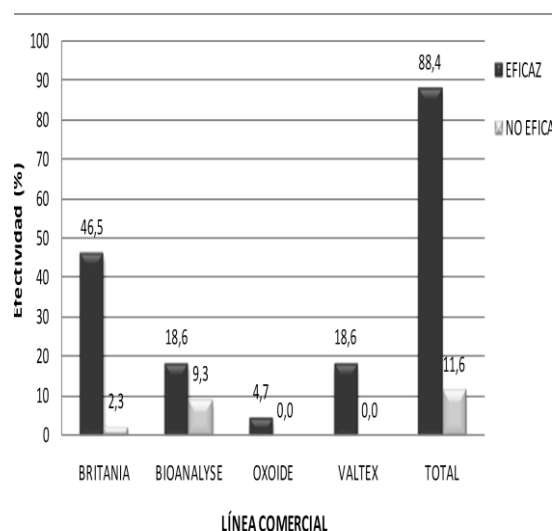
De la tabla 4 y grafico 3 Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a la fecha de vencimiento 2007, 2010, 2011, 2012, 2013; el 88.9% es eficaz y el 11.1% no son eficaces frente a la cepa de Escherichiacoli ATCC 25922.

Teniendo los discos antibióticos con fecha de vencimiento 2013 tiene un alto porcentaje de eficacia del 28.9% y no eficaz el 2.2% y la fecha de vencimiento del 2007 tiene un porcentaje de eficacia del 2.2%. Estadísticamente no se encontró significancia  $p=0,7275$  ( $>0,05$ ) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la fecha de vencimiento y la actividad antibacteriana.

Línea Comercial	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Britania	20	46,5	1	2,3	21	48,8
Bioanalyse	8	18,6	4	9,3	12	27,9
Oxoide	2	4,7	0	0,0	2	4,7
Valtex	8	18,6	0	0,0	8	18,6
Total	38	88,4	5	11,6	43	100,0

$p=0,0277$

**Tabla 6** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de las líneas comerciales frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



**Grafico 3** Efectividad de la actividad antibacteriana de los discos antibióticos de las líneas comerciales frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

De la tabla 7 y Grafico 4 Se observa que del 100% de los discos antibióticos examinados que correspondían a las líneas Britania, Bioanalyse, Valtex, Oxoid; el 88.4% es eficaz y el 11.6% es ineficaz frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Teniendo los discos antibióticos de la línea Britania un alto porcentaje 46,5% y la línea Oxoid un 4,7% más bajo.

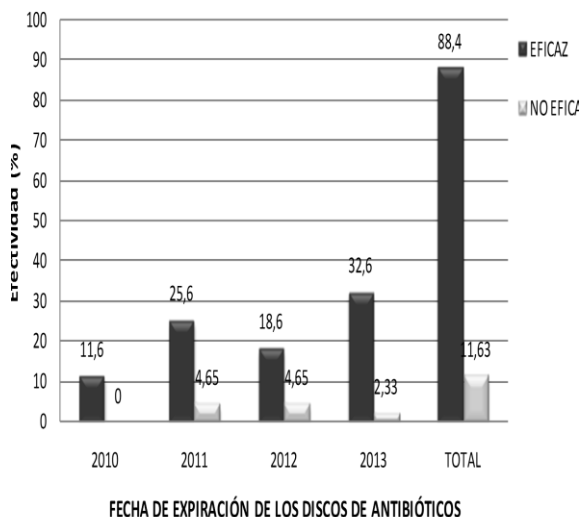
Estadísticamente se encontró significancia  $p=0,0277$  ( $<0,05$ ) a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la línea comercial y la actividad antibacteriana.

Fecha Expiración	Eficaz		No Eficaz		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
2010	5	11,6	0	0	5	11,6
2011	11	25,6	2	4,65	13	30,2
2012	8	18,6	2	4,65	10	23,3
2013	14	32,6	1	2,33	15	34,9
Total	38	88,4	5	11,63	43	100,0

$p=0,6007$

**Tabla 7** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración frente a la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011





**Grafico 4** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración frente a la Staphylococcus aureus ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

De la tabla 8 y gráfico 5 Se observa que del 100% de los discos antibióticos examinados que correspondían a la fecha de vencimiento 2010, 2011, 2012, 2013; el 88.4% es eficaz y el 11.6% es ineficaz frente a la cepa de Staphylococcus aureus ATCC 25923.

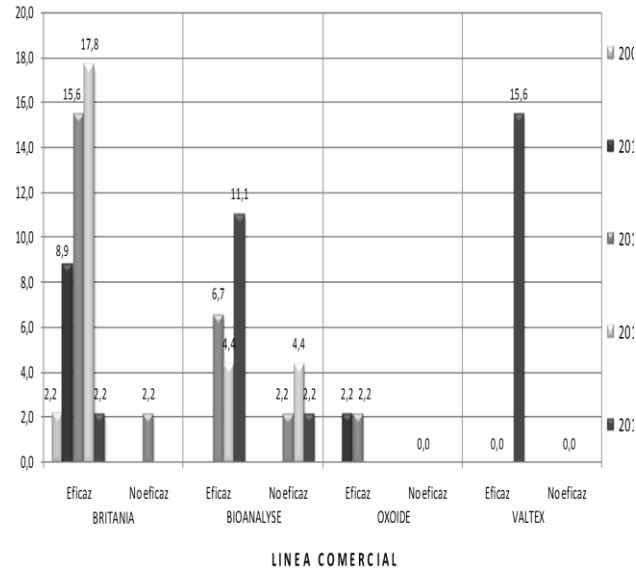
Teniendo los discos antibióticos con fecha de vencimiento 2013 tiene un alto porcentaje de eficacia del 32.6% e ineficaz del 2.33% y la fecha de vencimiento del 2010 tiene un porcentaje de eficacia del 11.6%.

Estadísticamente no se encontró significancia  $p=0,6007 (>0,05)$  a un nivel de confianza del 95% entre la eficacia de la fecha de vencimiento y la actividad antibacteriana.

Britania	Bioanalyse		Oxide		Valtex		Total	
	No Eficaz	Eficaz	No Eficaz	Eficaz	No Eficaz	Eficaz	No Eficaz	
Nº %	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %
1 2,2	0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0	1 2,2
4 8,9	0 0,0	0 0,0	0 0,0	1 2,2	0 0,0	0 0,0	0 0,0	5 11,1
7 15,6	1 2,2	3 6,7	1 2,2	1 2,2	0 0,0	0 0,0	0 0,0	13 28,9
8 17,8	0 0,0	2 4,4	2 4,4	0 0,0	0 0,0	0 0,0	0 0,0	12 26,7
1 2,2	0 0,0	5 11,1	1 2,2	0 0,0	0 0,0	7 15,6	0 0,0	14 31,1
21 46,7	1 2,2	10 22,2	4 8,9	2 4,4	0 0,0	7 15,6	0 0,0	45 100,0
.	.	0,5218	.	.	.	.	.	.

\*A un nivel de confianza del 95%

**Tabla 8** Relación entre la fecha de expiración de los Discos Antibióticos y líneas comerciales para la Escherichiacoli ATCC25922 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



**Grafico 5** Relación entre la fecha de expiración de los Discos de Antibióticos y líneas comerciales para la Escherichiacoli ATCC25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

De la tabla 9 y Grafico 6 Se observa que los discos antibióticos de la línea Britania muestran ineficacia en un 2.2 % con fecha de vencimiento 2011, siendo eficaces aquellos de fecha de vencimiento 2007, 2010, 2011, 2012, 2013 con un 46.7% del 100% de los discos analizados.

Los discos de la línea Bioanalyse muestran ineficacia en un 8.9 % con fecha de vencimiento 2011, 2012, 2013, siendo eficaces los de fecha de vencimiento 2007, 2010, 2011, 2012, 2013 en el 22.2% del 100% de los discos analizados.

Todos los discos de la línea Oxide muestran eficacia en un 4.4 % del 100% de los discos analizados con fecha de vencimiento 2010, 2011, no existiendo discos ineficaces al ser valorada frente a la Escherichiacoli ATCC25922

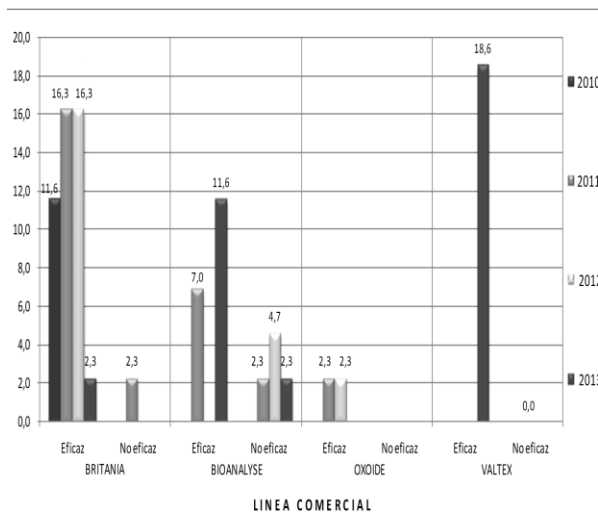
Todos los discos de la línea Valtex muestran una eficacia en un 15. 6% con fecha de vencimiento 2013.

Por lo tanto la línea Bioanalyse mostró con respecto a las otras líneas menor eficacia antibacteriana sobre la Escherichiacoli ATCC25922.

Fecha Expiración	Britania		Bioanalyse				Oxide				Valtex		Total					
	Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz		Eficaz		No Eficaz			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
2007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2010	5	11,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	11,6	
2011	7	6,3	1	2,3	3	7,0	1	2,3	1	2,3	0	0	0	0	0	1	3,0	
2012	7	6,3	0	0	0	0	2	4,7	1	2,3	0	0	0	0	0	0	1	2,3
2013	1	2,3	0	0	5	11,6	1	2,3	0	0	0	0	8	18,6	1	0	1	3,0
Total	20	46,7	1	2,2	8	18,2	4	9,1	2	4,5	0	0	8	18,2	1	0	4	9,1
P*	-		0,0874				-				-							

\*A un nivel de confianza del 95%

**Tabla 9** Relación entre la fecha de expiración de los Discos de Antibióticos y líneas comerciales para la Staphylococcus aureus ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



**Gráfico 6** Relación entre la fecha de expiración de los Discos de Antibióticos y líneas comerciales para la *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

De la tabla 10 y Gráfico 7: Se observa que los discos antibióticos de la línea Britania muestran ineficacia en un 2.3 % con fecha de vencimiento 2011, siendo eficaces los de fecha de vencimiento 2010, 2011, 2012, 2013 con un 46.5% del 100% de los discos analizados.

Los discos de la línea Bioanaly se muestran ineficacia en un 9.3 % con fecha de vencimiento 2011, 2012, 2013, siendo eficaces los de fecha de vencimiento 2011, 2013 con un 18.6% del 100% de los discos analizados.

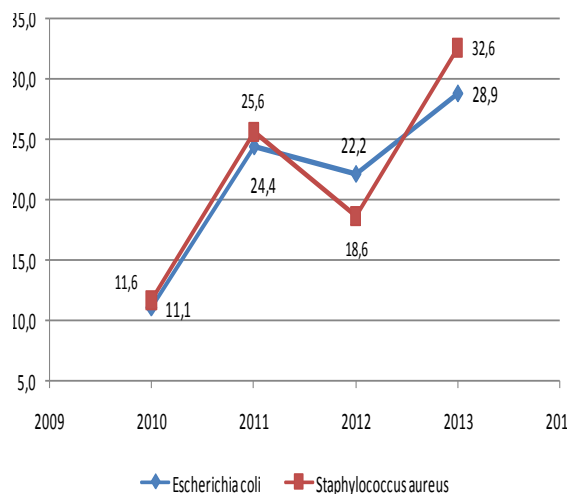
Todos los discos de la línea Oxide muestran eficacia en un 4.7 % con fecha de vencimiento 2011, 2012, no existiendo discos ineficaces al ser valorada frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del 100% de los discos analizados.

Todos los discos de la línea Valtex muestran una eficacia en un 18.6% con fecha de vencimiento 2013, puesto que no mostro ninguna ineficacia del total de las muestras.

Por lo tanto la línea Bioanaly se mostró con respecto a las otras líneas menor eficacia antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Fecha expiración	Escherichiacoli atcc 25922		Staphylococcus aureus atcc 25923	
	Eficaz		Eficaz	
	Nº	%	Nº	%
2007	1	2,2	-	-
2010	5	11,1	5	11,6
2011	11	24,4	11	25,6
2012	10	22,2	8	18,6
2013	13	28,9	14	32,6
Total	40	86,7	38	88,4

**Tabla 10** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

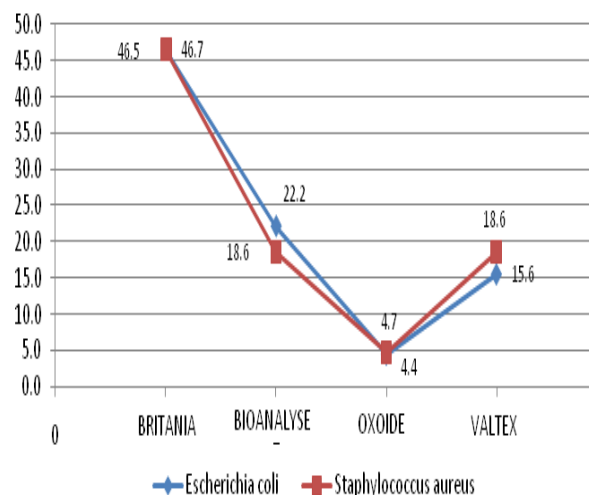


**Grafico 7** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de los Discos Antibióticos de fecha de expiración del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

De la tabla y Grafico se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a la fecha de vencimiento; 2007, 2010, 2011, 2012, 2013; la cepa de Staphylococcus aureus ATCC 25923 con un porcentaje del 88.4% mostro mayor eficacia con respecto a la cepa de la Escherichiacoli ATCC25922 con un porcentaje de 86.7%.

Línea Comercial	Escherichiacoli Atcc 25922		Staphylococcus aureus Atcc 25923	
	Eficaz		Eficaz	
	Nº	%	Nº	%
Britania	21	46,7	20	46,5
Bioanalyse	10	22,2	8	18,6
Oxoid	2	4,4	2	4,7
Valtex	7	15,6	8	18,6
Total	40	88,9	38	88,4

**Tabla 11** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de Discos de Antibióticos según línea comercial del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011



**Grafico 8** Efectividad de la Actividad Antibacteriana de Discos de Antibióticos según línea comercial del Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas Sucre 2011

De la tabla 13 y Grafico 9 Se observa que del 100% de los discos examinados que correspondían a la línea comercial; Britania, Bioanalyse, Oxoide, Valtex; la cepa de Escherichiacoli ATCC25922 con un porcentaje del 88.9% mostro mayor eficacia con respecto a la cepa del Staphylococcus aureus ATCC 25923 con un porcentaje de 88.4%.

### Análisis y discusión

En la valoración de la eficacia antibacteriana de los Discos antibióticos en relación a la línea comercial en ambas cepas tanto la Escherichiacoli ATCC25922 en un 88.9% y en el Staphylococcus aureus ATCC 25923 en un 88.4%, se obtuvo un alto porcentaje siendo la línea comercial Britania la de mayor eficacia frente a la demás, podría deberse a que tiene una buena conservación, es una línea que muestra calidad y es distribuida por el vendedor en buenas condiciones. La línea que mostro mayor ineficacia en la valoración fue Bioanalyse en un 9.3% frente al Staphylococcus aureus ATCC 25923, y en un 8.9% frente a la Escherichiacoli ATCC 25922; ello podría deberse a las deficientes condiciones de transportación del producto e inadecuada conservación del producto.

En la valoración de la fecha de vencimiento frente a la eficacia de los discos antibióticos en ambas cepas tanto la Escherichiacoli ATCC25922 y en el Staphylococcus aureus ATCC 25923; se observó que no es determinante la fecha de vencimiento para la utilización clínica de los discos antibióticos.

Puesto que una mayoría de los discos ya vencidos fueron eficaces, podría deberse a que el fabricante puso una concentración elevada del antibiótico y que pesar del tiempo aún no se esta degradando, por buena conservación no obstante es una necesidad hacer siempre un control de calidad para tener un resultado clínico confiable.

En la comparación realizada de la línea comercial, con la fecha de vencimiento, con un porcentaje de 46.7% para Escherichiacoli ATCC25922 y un 46.5% para Staphylococcus aureus ATCC 25923; se observó que la eficacia de la línea BRITANIA tiene mayor porcentaje sobre las otras líneas, por tanto la fecha de vencimiento no es un indicador de ineficacia de los discos antibióticos y podría deberse, a las buenas condiciones de conservación del producto y la excelente calidad del mismo.

En el caso de la línea "BIOANALYSE" esta mostro mayor ineficacia en un 9.3% frente al Staphylococcus aureus ATCC 25923, y un 8.9% frente a la Escherichiacoli ATCC25922 con respecto a las otras líneas y la fecha de vencimiento no fue determinante puesto que en algunos casos los discos con fecha de vencimiento actual no tuvieron actividad antibacteriana, esto podría deberse a la deficiente conservación de los discos antibióticos de la casa distribuidora distribuidor local y al uso de los discos antibióticos en condiciones inadecuadas.

En el cuadro donde se comparó la eficacia de ambas cepas; con respecto a la fecha de vencimiento, la eficacia es relativamente proporcional al tiempo de uso puesto por el fabricante esto podría deberse a que muchos de los antibióticos con el tiempo y factores externos pierden su actividad por degradación del antibiótico, antibióticos fotosensibles a la exposición de luz, humedad y calor.

La línea Britaniatiene mayor eficacia debido a que se analizó en número apreciable de discos antibióticos (21 discos antibióticos) y la Oxoide menor actividad ya que solo se analizó (2 discos antibióticos), por tanto la línea comercial no es un indicador de la eficacia de la actividad antibacteriana.

Sin embargo la eficacia de los discos antibióticos frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichiacoli* ATCC25922, en la línea Bioanalyse Y Valtex muestra una ligera diferencia porcentual que podría deberse a que algunos discos antibióticos tienen alta o baja concentración antibiótica pero no la concentración ideal para inactivar a las dos cepas bacterianas.

### Conclusiones

La Eficacia de los Discos Antibióticos, correspondió al 88.7% para *Escherichiacoli* ATCC 25922, 88.4% para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; por lo que la hipótesis planteada no se cumple. Debido a que se planteo una eficacia del 50%.

La ineficacia de discos correspondió al 13,3% para *Escherichiacoli* ATCC 25922 y 11,6% para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, del 100% de los discos analizados.

La Eficacia según fecha de expiración, para los discos antibióticos 2010 valorados con la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 correspondió en un 11.6% y 76.46% para el resto de los discos vigentes 2011, 2012, 2013.

La Eficacia según fecha de expiración, para los discos antibióticos 2007, 2010 valorados con la cepa *Escherichiacoli* ATCC 25922 correspondió en un 13.3% y 75.5% para el resto de los discos vigentes 2011, 2012, 2013.

La fecha de expiración no es un indicador definitivo de la ineficacia de los discos antibióticos.

La Eficacia según la línea comercial correspondió a la marca BRITANIA, en un 46.7% (2007, 2010, 2011, 2012, 2013) en relación a las otras marcas para ambas cepas ATCC.

La línea Bioanalyse es ineficaz en un 8,8% (2011,2012,2013) en relación a las otras marcas comerciales.

Finalmente hacemos notar que la presente investigación toma en cuenta la eficacia de los discos antibióticos conservados en el Laboratorio De Microbiología Clínica De La Facultad De Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de ahí que se hace mención a las líneas comerciales.

### Recomendaciones

Realizar un control de calidad a los nuevos lotes de Discos Antibióticos que una vez abiertos adquiera la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas para la próxima gestión, para realizar un seguimiento de la actividad antibacteriana.

Efectuar controles de calidad continuos de los discos antibióticos, medios de cultivos y reactivos en el laboratorio de Microbiología Clínica.

Aplicar el protocolo adjunto en anexos a esta investigación en controles sucesivos en el laboratorio de Microbiología Clínica.

Implementar control de calidad interno de equipos empleados en al conservación de discos antibióticos.

## Agradecimientos

Los investigadores agradecen a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

## Referencias

Weng Alemán, Z. Hernández Iglesias B., Beltrán Díaz “Control de medios de cultivo con empleo de cepas bacterianas autóctonas como patrones secundarios de referencia” Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM) weng@infomed.sld.cu [Accesado 3 de Noviembre 2010].

McGowan J., “Control microbiológico de antibióticos”. Curvas estándar, determinación de potencia y preparación de discos para pruebas de sensibilidad. ”<http://www.monografias.com/trabajos73/manual-control-calidad-microbiologia/manual-control-calidad-microbiologia2.shtml> 1 [Accesado 12 noviembre 2010]

Isenberg H. “Selección De Cepas Antibiótico-Sensibles Y Determinación De Curvas Estándar.” [www.scielo.org.pe/pdf/rins/v17n1-4/a04v17n1-4.pdf](http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v17n1-4/a04v17n1-4.pdf) [Accesado 16 de Noviembre del 2010]

Marko A. “Existen herramientas básicas para el Control de Calidad de una empresa.” <http://www.monografias.com/trabajos11/prico/prico.shtml> [Accesado 22 de Noviembre 2010]

Lobos H. R., D García M.J. “Microbiología General” Procedimientos y Técnicas de Laboratorio Ed. Vol. 1. Edit. Instituto de Salud Pública de Chile. Ciudad Santiago 2008.

Trigoso A. Cristian y Colaboradores “Bacteriología Básica” Ed.1º Edit. Universidad Mayor de San Andrés Ciudad La Paz Bolivia.

INLASA “Bitácora para el Control de Calidad Interno del Antibiograma”

“CercenadoEmilia “Limites de Confianza” <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioAntibioticos.htm> [Accesado 5 de Diciembre 2010]

Obregón G, Zavaleta A. “Evaluación de la calidad de discos de sensibilidad antimicrobiana”. <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap32.asp> [Accesado 7 de Enero 2011]

Aguilar Merino J. M. “Control De Los Medios De Cultivo” <http://html.rincondelvago.com/analisis-microbiologico.html> [Accesado 10 de Enero 2011]

Ferraro, M. J. “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing” Eleventh Informational Supplement. Vol21.,Nº 1 M100-S11 NCCLS National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. [Accesado 9 de febrero del 2011].

García Rodriguez José A. “Método del Antibiograma Difusión Agar” <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap11.htm> [Accesado 12 de Abril del 2011].

Contreras Quispe. Rosa “Fase pre analítica y analítica del diagnóstico microbiológico” Control de calidad” Laboratorio de IRAS e IIHCNSP –INS. [Accesado 15 de abril del 2011]

Lobos Vandepitte. “Métodos Básicos de Laboratorio en Bacteriología Clínica” Organización mundial de la salud Ginebra.[Accesado 21 de abril del 2011].



## Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de Stevia Rebaudiana contra la cándida Albicans, Sucre 2011-2012

CHILACA-Gladys † & CAVA-Cintia

*Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence N° 51, Sucre- Bolivia.*

Recibido 01 de Julio, 2014; Aceptado 04 de Diciembre, 2014

### Resumen

En el último par de años, la Stevia ha sido muy popular, sobre todo consume como té de hoja, jarabes y miel, pero ahora como un producto "procesado". Sin embargo, por otro lado, también se plantea en la literatura, el uso como un papel antimycotic. This tiene como objetivo determinar la actividad antifúngica de Stevia rebaudiana extrae a diferentes concentraciones contra Candida albicans. La manera de determinar si realmente tiene actividad antifúngica, estaba realizando la técnica de difusión en disco, para que extrae Stevia rebaudiana 10%, concentración 20% y 30%, entonces incrustar se obtuvo disco de papel de filtro, preparado anteriormente.

**Stevia, candida, té**

### Abstract

In the last couple of years, Stevia has been very popular, mostly consumed as leaf teas, syrups and honey, but now as a product "processed". However, on the other hand, is also raised in the literature, the use as an antimycotic. This paper aims to determine the antifungal activity of Stevia rebaudiana extracts at different concentrations against Candida albicans. The way to determine if it really have antifungal activity, was performing the art of disk diffusion, for it extracts rebaudiana Stevia 10%, 20% and 30% concentration, then embed filter paper disc was obtained, prepared above, and placing on the sowing performed with Candida albicans strains on the culture medium and Sabouraud dextrose agar to observe whether there halo formation and comparing inhibition halos formed with ketoconazole.

**Stevia, candida, teas**

**Citación:** CHILACA Gladys & CAVA Cintia. Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de Stevia Rebaudiana contra la cándida Albicans, Sucre 2011-2012. Revista de Energía Química y Física 2014, 1-1:241-270

† Investigador contribuyendo como primer autor

## Introducción

La Stevia era usada desde hace mucho tiempo por los indios guaraníes y es conocida también como hierba dulce, Ka-á he-é o Caá-jhe-é, y ofrece una gran cantidad de beneficios para nuestra salud, es una planta a la que se le concede propiedades antiácida, antibacteriana bucal, antidiabética, cardiotónica, digestiva, diurética, edulcorante, hipoglucemiante, hipotensora, mejoradora del metabolismo y vasodilatadora.

El sabor dulce de la planta se debe a un glucósido llamado steviosido. La Stevia en su forma natural es 15 veces más dulce que el azúcar de mesa (sacarosa). Y el extracto en polvo es de 100 a 300 veces más dulce que el azúcar.

Estudios denotan su actividad antibiótica, especialmente contra las bacterias *E. Coli*, *Staphilococos aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomona aeruginosa* y *Corynebacterium difteriae*, así como también contra el hongo *Cándida albicans* productor frecuente de vaginitis en la mujer.

La *Cándida albicans* puede asumir patogeneidad provocando la candidiasis; en ese caso se presenta como una afección vaginal (vaginitis), de la cavidad oral, del intestino o de la piel.

Sobre las bases de estas consideraciones se plantea el siguiente Problema de Investigación: ¿Cuál será la actividad antimicótica del extracto de *Stevia rebaudiana* frente a la *Cándida albicans*? Se estableció como Objeto de Estudio: El extracto de *Stevia rebaudiana* como antimicótico frente a la *Cándida albicans*. Y el Campo de Acción: Actividad inhibitoria de la *Cándida albicans* con la *Stevia rebaudiana*.

Lo antes mencionado está Justificado con: La candidiasis constituye un grupo de infecciones causada por un hongo oportunista, del género *Cándida*, de los cuales *Cándida albicans* es la más frecuente. Representa un 25% de las micosis.

Estos hongos están siempre presentes en la piel y en la mucosa del tracto digestivo, genitourinario y respiratorio de la mayoría de las personas, pero se encuentran controlados por otros microorganismos no patógenos. Cuando se produce un desequilibrio, el aumento desmedido de la población de hongos produce esta u otras micosis.

Cuando el hongo de la *Cándida* se produce, es muy importante buscar un tratamiento para eliminar esta infección por hongos que puede ser vaginal, oral o genital, en general tiene un buen pronóstico, sin embargo, a veces es difícil de tratar. Los antibióticos terapéuticos reducen y debilitan a las bacterias amistosas y permiten a la *Cándida* florecer y reaparecer con el tiempo.

La hierba conocida con el nombre de *Stevia*, ofrece una gran cantidad de beneficios para nuestra salud siendo muy importante para el tratamiento natural contra la *Cándida albicans*. No es un diagnóstico aceptado por la comunidad médica convencional.

El presente trabajo busca ampliar los conocimientos de forma integral acerca de las propiedades medicinales de la *stevia*, en especial comprobar la acción antimicótica contra la *Cándida albicans*.

De acuerdo al problema planteado se hizo necesario dar una dirección a la investigación para lo cual se determinó los siguientes objetivos, como:

## Objetivo General

Valorar la actividad antimicótica, in vitro, del extracto de Steviarebaudiana contra la *Cándida albicans*.

## Objetivos Específicos

- Obtener el extracto de Steviarebaudiana a diferentes concentraciones.
- Cultivar y aislar las colonias de la *Cándida albicans*.
- Comparar la sensibilidad de la propiedad antimicótica del extracto de Steviarebaudiana con otro antimicótico (Ketoconazol), contra la *Cándida albicans*.

Como respuesta al problema se planteó la siguiente Idea A Defender: El extracto de Stevia rebaudiana tiene propiedades antimicóticas frente a la *Cándida albicans*.

## Marco contextual

### Bolivia

Bolivia es un Estado Plurinacional independiente y democrático. Su moneda oficial es el boliviano. Los idiomas oficiales son el castellano (el más hablado), el quechua, el aymara y el tupí guaraní. El territorio boliviano se divide en 9 departamentos y 112 provincias. Bolivia cuenta con aproximadamente 10.270.300 habitantes, con una superficie de 1.098.581 Km<sup>2</sup>.

Bolivia se localiza en el centro de América del Sur, sin salida al mar, y limita con Brasil, Paraguay, Argentina, Perú y Chile. En su territorio se reconocen tres regiones muy diferenciadas.

El clima y la vegetación de Bolivia varían en función del relieve desde las plantas espinosas y cactus de las llanuras orientales, donde predomina el clima tropical cálido y seco que se extiende por la fría región andina con clima de montaña, donde habitan la llama y la alpaca (cuya lana es muy apreciada), pasando por las ya mencionadas selva amazónica y los bosques tropicales de los jaguares. Bolivia posee importantes recursos minerales (plata, tungsteno, estaño y zinc), de hidrocarburos y agrarios.<sup>(12)</sup>

Las ciudades más pobladas de Bolivia, que superan los dos millones de habitantes, son: La Paz, sede de gobierno, con su ciudad-suburbio El Alto, y Santa Cruz de la Sierra.

Pertenece a varias organizaciones internacionales, como la ONU (Organización de las Naciones Unidas) y la OEA (Organización de Estados Americanos).

### Situación de la salud en Bolivia

Bolivia es un país en vías de desarrollo, actualmente la situación de la salud es crítica, cuyas características relacionan el proceso salud enfermedad de las comunidades y que es necesario establecer relaciones, que determinen la vulnerabilidad de una población, los que constituyen riesgos particulares frente a la atención en salud.

Según el mapa de pobreza el 70% de los hogares son pobres 32% indigencia, 33% pobreza moderada y el 5% de marginalidad. El 13% de hogares se encuentra en el umbral de la pobreza con un mínimo de satisfacción de necesidades básicas y el 17% de hogares satisfacen sus necesidades básicas; por cuanto dicho porcentaje no pueden satisfacer sus necesidades de educación, vivienda más aun preservar la salud física, mental y acceder a una comunidad sustentable (mejor calidad de vida).

Enfermedad/Daño	Sospechosos	Confirmados	Fallecidos
Cólera	0	0	0
Dengue Clásico	2615	169	1
Dengue Hemorrágico	10	0	0
Hanta Virus	1	0	0
Fiebre Hemorrágica Boliviana	8	2	2
Leptospirosis	1	0	0
Meningitis meningocócica	1	0	0
Mordedura Serpiente	18	0	0
Parálisis flácida aguda	1	0	0
Pers. expuestas virus rábico	459	0	0
Rabia Canina	42	23	0
Sarampión/Rubéola	6	0	0
Tosferina	2	0	0

**Tabla 1** Datos Estadísticos de Salud en Bolivia. Información Consolidada Semana 1 a Semana 4 Gestión 2012

### Chuquisaca

El Departamento de Chuquisaca es una de las nueve divisiones territoriales de Bolivia, con 51.524 km<sup>2</sup>. Su capital es Sucre, antiguamente llamada La Plata o Charcas.

El departamento tiene una población Total: 531,522 Hombres: 260,604 Mujeres: 270,918 Área Urbana: 218,126 Área Rural: 313,396 (según el censo 2001).

El departamento de Chuquisaca está ubicado al sur del Estado Plurinacional de Bolivia. Limita al norte con los departamentos de Potosí, Cochabamba y Santa Cruz; al sur con el departamento de Tarija; al oeste con el departamento de Santa Cruz y la República de Paraguay y al oeste en el departamento de Potosí.

### Situación de la Salud en Chuquisaca

La pirámide poblacional muestra un patrón expansivo (base ancha y cima estrecha) que refleja una alta natalidad y alta mortalidad. La estructura poblacional en este departamento muestra un predominio de población joven, donde cerca de la mitad de los habitantes tienen menos de 15 años (42%).

El parto atendido en servicio de salud es bajo se ha mantenido estacionario en los últimos años, con una cobertura de 53% en el año 2005. Ello significa que 5 de cada 10 partos no llegan a ser atendidos en establecimientos de salud, lo que conlleva riesgos para la vida de las mujeres y niños/as.

La cobertura de vacunación, representada por la cobertura de la tercera dosis de Pentavalente en niños/as menores de un año, mantiene altos índices, aunque hasta el 2005 ha tenido un ligero descenso, pues ese año fueron vacunados nueve de cada 10 niños de esa edad.<sup>(14)</sup>

Según datos del Sistema Nacional de Información en Salud (SNIS), 2 de cada 5 niños/as menores de 5 años tiene algún grado de desnutrición.

A pesar de las intervenciones realizadas por el Ministerio de Salud para controlar la enfermedad de Chagas, este departamento se mantiene en riesgo, ya que en el 2005 el 4,1% de las viviendas tenía presencia de vinchucas, insecto transmisor de esta enfermedad. De igual manera, este departamento es considerado de mediano riesgo para la Malaria, con una incidencia parasitaria anual en el 2005 de 4,5 x 1000 (el índice nacional fue de 5,5 por mil).

El departamento de Chuquisaca cuenta con 356 establecimientos de salud, 6 de 3er nivel, 10 de segundo y 340 de primer nivel. <sup>(15)</sup>

### Sucre

La ciudad de Sucre está dividida en 8 distritos, 4 urbanos y 3 rurales. Al año 2010 el Municipio de Sucre reporta una población de 306.754 Habitantes. Aproximadamente el 90 % de la población del municipio vive en el área urbana de la ciudad y el 10 % en el área rural con una tendencia de crecimiento proporcional del área urbana debido a la inmigración interna.

Su arquitectura colonial y sus museos son una señal de su historia y cultura, tradiciones que han perdurado a través del tiempo. Sucre es la ciudad en que se dio el Primer Grito Libertario de América, el 25 de mayo de 1809, y donde se firmó el Acta de la Independencia del dominio español, el 6 de agosto de 1825.

Años después, se la designa Capital de Bolivia. Sucre es también llamada la ciudad de los 4 nombres, correspondiendo cada uno de ellos a un período de su vida. <sup>(11)</sup>

### Características de la salud en Sucre

Actualmente en la ciudad de sucre existen muchos centros de atención médica que brindan servicios de salud en todos los niveles, de estos centros hospitalarios son varios los que prestan atención de salud por especialidades. Entre los centros hospitalarios tenemos:

- Hospital de la Mujer o Gineco-Obstétrico
- Instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés
- Hospital Santa Barbará

- Instituto Psiquiátrico Gregorio Pacheco
- Hospital San Pedro Claver (Lajastambo)
- Hospital Jaime Mendoza (C.N.S)
- Clínica Caja CORDES
- Hospital Caja Petrolera de Salud
- Centro Médico Poconas (Ginecología, Obstetricia)
- Hospital Cristo de Las Américas
- Hospital Universitario UNI II Anton Boel V. <sup>(11)</sup>

### Micosis en Bolivia y Sucre

Las micosis afecta al bienestar físico, mental y emocional. Hoy en día la Cándida puede ser una de las primeras causas de enfermedad en Bolivia porque crea una escalera de caracol de salud descendente.

La micosis, enfermedad prevenible y curable, amenazan la existencia de la comunidad Yuqui, debido a la falta de atención médica en su territorio, ubicado en el trópico de Cochabamba, estos indígenas enfrentan los efectos de la enfermedad que los van diezmando, poniendo en riesgo su existencia como raza. <sup>(13)</sup>

La candidiasis bucal es muy frecuente en personas de la tercera edad alcanzando un 61.3 % Según un estudio realizado en la ciudad de Sucre, en el Hospital Jaime Mendoza en el 2009. <sup>(3)</sup> En un estudio realizado, en la ciudad de Sucre, a mujeres en gestación se evidencio que el 20 % presentaba infección por candidiasis vulvo-vaginal. <sup>(1)</sup>

## Producción de Stevia en Bolivia y Chuquisaca

La Stevia ingresa al país aproximadamente el año 1992, no prospera por falta de capacitación y programas de asistencia técnica, mercado y políticas de apoyo gubernamental.

El Ministerio de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural de Bolivia, con la colaboración de la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA), entre el 1996 y 1997, realizó en dos fases el estudio sobre Posibilidades del Desarrollo Agroindustrial de la Steviarebaudiana Bertoni, mediante el envío de dos expertos a corto plazo, uno en la parte agrícola y otro en la parte industrial, habiéndose obtenido resultados exitosos. Después de recorrer el país y observar las experiencias existentes en el cultivo de stevia los expertos concluyeron que en Bolivia existen regiones donde este cultivo puede desarrollarse de manera favorable.

La producción de stevia en Bolivia es una actividad nueva. Sin embargo; teniendo en cuenta el potencial de recursos naturales con que cuenta el país y la existencia de condiciones medioambientales favorables para el cultivo, producción e industrialización de stevia, este cultivo puede constituirse en una importante agroindustria para Bolivia, con efectos multiplicadores de carácter socioeconómico y ambiental muy beneficiosos para el país y en especial para los pequeños productores.

Dentro de este contexto el pleno desarrollo agroindustrial de la stevia en Bolivia contribuirá de forma muy eficiente, eficaz y efectiva para que el país sea reconocido nacional e internacionalmente por su competencia y referencia en la producción, consumo interno y exportación de productos derivados de la stevia en calidad de un producto natural y beneficioso para la salud humana, lo que conducirá al país a tener la costumbre y hábito de generar sus propios conocimientos y tecnologías de forma ventajosa para su economía, evitando así la dependencia externa.<sup>(19)</sup>

Actualmente, la producción está muy dispersa en pequeñas superficies por lo que se hace difícil el acopio de la hoja, peor la cuantificación de la producción nacional. Las estimaciones sugieren que en Bolivia no existen más de 120 hectáreas, las mismas que están distribuidas en todo el territorio nacional, desde Pando hasta Tarija y desde Puerto Suarez hasta los Yungas de La Paz, en pequeñas superficies.

En los últimos años, sin embargo, existen empresas que están apostando en la implementación de variedades mejoradas importadas de otros países.

Asimismo, los rendimientos promedios que se obtienen, están entre los 1500 kilos a 2500 kilos de hoja seca por hectárea/año.<sup>(25)</sup>

La producción de stevia en Bolivia no llega a cubrir ni el 5 por ciento de la demanda nacional, según datos del Centro de Investigación y Producción de Stevia (CIPE), que lleva más de 14 años en la actividad.

El precio por kilo de hoja seca de stevia incrementó en los últimos años de 1,5 dólares, al precio actual de \$us 10 por kilo.

En cuanto a la rentabilidad, con la variedad criolla se obtiene un precio entre 2 y 2,5 dólares el kilo, con la variedad M1C1 (Morita Criolla), esta *variedad* es mucha más dulce q la criolla, se obtiene de 5 a 7 dólares. Es decir, que si produce mil kilos es posible ganar hasta 7 mil dólares, con los precios actuales se puede tener ingresos de hasta 10.000 \$us por hectárea.

Con la variedad M1C1 (Morita Criolla), ahora no será difícil dedicarse a la producción de stevia. Antes sólo se vendían plantines y cada uno cuesta hasta 2 bolivianos. Si uno quería comprar 100 mil plantines, que es lo recomendable para sembrar una hectárea, tenía que invertir 200 mil bolivianos. Ahora la inversión es de solamente 7.000 bolivianos usando semilla.<sup>(6)</sup>

El Centro de Investigación y Producción de stevia (CIPE). Logró resultados especialmente en Santa Cruz, pero también empezó a llegar con fuerza a La Paz y Cochabamba.

En Chuquisaca promueve proyectos experimentales. El cultivo de la stevia es muy promisorio para Chuquisaca, porque una persona puede obtener entre 10 mil y 15 mil dólares por hectárea cultivada.

En Chuquisaca, el CIPE ya hizo pruebas en Río Chico, Cachimayu, Nucchu, Yamparéez, Zudáñez, Tomina, Sopachuy, Padilla, Serrano, Tarabuco y Monteagudo. Los proyectos de ensayo fueron financiados por organismos internacionales, que están predisuestas a seguir incentivando emprendimientos en el cultivo de stevia.<sup>(5)</sup>

Los municipios de Padilla, en la región de Chuquisaca Centro, y Yotala, en Chuquisaca Norte, fueron las localidades identificadas para

implementar Centros Pilotos de producción de stevia en el Departamento.

### Marco teórico

**Nombre** Stevia rebaudiana

**Nombre científico:** Stevia rebaudiana Bertoni  
= Eupatorium rebaudianum Bertoni.

**Familia:** Compuestas (Asteráceas).

**Nombres populares:** caájeé, kaáheé, estévia, CaáHeé - Yerba Dulce

### Descripción

Hierba vivaz de 40 hasta 80 cm de altura, tallo anual subleñoso de color parduzco, sin ramificaciones durante el primer año, abundantes ramificaciones a partir del segundo, raíz pivotante poco profunda; hojas cortamente pecioladas, casi sésiles, ovales o lanceoladas, bordes aserrados, tomentosas, las distales agrupadas en número de tres o cuatro, color verde intenso en el envés y verde azulado y lustroso en el haz; flores hermafroditas, pequeñas, corola de color blanco, distribuidas en panículas terminales. Florece durante primavera y otoño.

### Hábitat

Oriunda de Paraguay, naturalizada en Brasil y Argentina (Misiones), en donde se encuentran abundantes eco tipos. Se la cultiva en Japón, China, Corea, Taiwán, Tailandia, Indonesia y Filipinas. En América es cultivada principalmente en Paraguay y Brasil, también en la Argentina y Bolivia.<sup>(10)</sup>

### Parte utilizada

Hojas, de las cuales se extraen distintos componentes de propiedades edulcorantes, siendo los más importantes el steviósido y el rebaudiósido A, que en plantas no mejoradas alcanzan entre un 6 a 8% y 2 a 3% respectivamente.

El contenido y la proporción de componentes activos es variable según la variedad, fase de desarrollo, estado de crecimiento, etc.

### Requerimientos para su cultivo

**Clima:** En Paraguay, Brasil y Argentina crece espontánea en áreas con clima subtropical, subhúmedo, con precipitaciones entre 1.200 y 1.800 mm<sup>3</sup> distribuidos durante todo el año.

**Temperatura:** Temperaturas promedios superiores a 20° C. Es muy poco resistente a la falta de agua. La temperatura apropiada para su cultivo es entre 15 y 30° C, sin riesgo de heladas posteriores al momento de brotación. La temperatura mínima para la germinación es 20° C.

**Suelo:** Se la encuentra espontánea en diferentes tipos de suelos: de fertilidad escasa, ácidos, desde arenosos a húmidos y con alta humedad. Crece muy bien en suelos arenosos húmidos con un pH de 6,5 a 7,5, no salinos. Si bien crece en suelos arcillosos, éstos deben ser de buen drenaje; no son convenientes los suelos con excesos de humedad ni los de alto contenido de materia orgánica, principalmente por problemas fúngicos.

### Cultivo

**Multiplicación:** puede realizarse en forma sexual o asexual.

- **Por semillas.-** Por ser una especie de polinización cruzada (auto incompatible) se produce una gran variabilidad tanto en aspectos morfológicos como en el contenido de steviósido en las plantas hijas, pero es un método válido en producciones pequeñas.<sup>(20)</sup>

El poder germinativo de la semilla es generalmente bajo, rondando entre el 10 y 40% al ser cosechada, siendo su longevidad no mayor a los 8 meses.

La conservación debe realizarse en condiciones de baja humedad y temperatura, en oscuridad y preferentemente en envases herméticos.

Para retirar semillas se deben elegir plantas vigorosas, seleccionadas por su producción y comportamiento agronómico.

Es conveniente iniciar el cultivo en vivero y producir plantines, esto facilita el riego y desmalezado, así como otros cuidados que fueren necesarios. Posteriormente los plantines serán llevados al terreno definitivo, generalmente durante el otoño.

- **Retoños y matas.-** Se pueden separar hijuelos durante la primavera temprana. Estos pueden ser llevados al terreno definitivo directamente. El número de hijuelos por planta es poco numeroso, por lo que es útil para cultivos de pequeñas superficies y la selección y multiplicación de plantas madres. Conviene hacer una selección y clasificación de los hijuelos, descartando enfermos, defectuosos y muy pequeños.



- **Estacas.-** Es útil para cultivos de escala comercial. De plantas adultas se separan estacas de tallos que contengan al menos 2 ó 3 nudos, que se hacen enraizar en vivero durante el otoño e invierno distanciadas unos 10-15 cm entre sí, una vez enraizadas y durante la primavera se las llevará al terreno definitivo.
- **Micropropagación.-** La obtención de plantines por este método es el más conveniente para la obtención de clones de alta producción.<sup>(20)</sup>

### Implantación

En la elección del terreno de cultivo deberán tenerse en cuenta ciertos aspectos, como:

- Lotes que no sean de excesiva fertilidad, elevado contenido de materia orgánica en el suelo determina, que las plantas se vayan en vicio y problemas de enfermedades.
- Suelos con buen drenaje.
- Hacer una adecuada rotación de cultivos. Frutilla y tomate, por ejemplo, no son antecesoros adecuados pues son atacados por los mismos patógenos. La cama de siembra y plantación deberá ser realizada en forma esmerada, en el primer caso pues se trata de semillas de tamaño muy pequeño y en el segundo porque sus raíces exploran no más allá de los 15 cm de profundidad.

La plantación definitiva podrá ser realizada ubicando los plantines entre 0,60 a 0,85 m entre líneas y 0,16 a 0,25 m entre plantas de la línea. De todos modos, se estimará una densidad de plantación de entre 55.000 y 85.000 plantas/hectáreas, ya que las distancias del cultivo convendrá adecuarlas, en cierta medida, a la maquinaria disponible en cada establecimiento.

Los momentos más adecuados para realizar la plantación es durante la mañana temprana y el atardecer, cuando las temperaturas no son tan elevadas, también son convenientes los días nublados y húmedos. Días posteriores a una lluvia son ideales o, en caso contrario, deberá realizarse un riego previo a la plantación, asimismo, con posterioridad a la plantación deberá hacerse otro.

### Cuidados Culturales

Los principales cuidados consisten en el mantenimiento de un cultivo limpio por medio de métodos químicos, y mecánicos y manuales, principalmente.

Los herbicidas más comúnmente utilizados son trifluralina en pre-plantación; linurón y algún graminicida posteriormente, dependiendo de las malezas presentes y del grado de infestación; ello se complementa con carpadas mecánicas entre líneas y manuales entre plantas. Durante el invierno, previo a la brotación y de ser necesario, podrá efectuarse un corte para uniformar la altura del cultivo y favorecer una brotación uniforme.

### Cosecha

La primera cosecha se realiza hacia el final de la primavera y la segunda en otoño temprano. Bajo condiciones de clima adecuado pueden llegar a realizarse tres cortes al año. Luego del corte se seca y enfarda para su envío a la planta de extracción.

Los rindes son crecientes durante los primeros tres años de cultivo, recudiéndose a partir del cuarto, momento en el cual se estima conveniente cambiarlo de potrero.

El rendimiento en steviósido de la materia seca obtenida es variable, dependiendo tanto de factores genéticos como ambientales, incluyendo en esto último tanto las condiciones de clima y suelo, las circunstancias meteorológicas durante la estación de crecimiento y el manejo del cultivo. Así se pueden encontrar en la bibliografía rendimientos de un 7% hasta un 20%.<sup>(20)</sup>

### Propiedades

Algunas de las propiedades de las hojas de Stevia son las siguientes:

- Al no contener azúcar (sacarosa), no contiene calorías.
- No es fermentable, por lo tanto no actúa como fuente de alimento para las levaduras.
- No es tóxico; es extensivamente usado sin efectos adversos.
- Contiene vitamina A, B2, B6, C; asimismo; proteínas, fibra dietética, hierro, fósforo, calcio, potasio, aluminio, sodio, manganeso, selenio, silicio, magnesio, zinc, cobalto, cromo, caroteno, aminoácidos, carbohidratos, enzimas, ácidos orgánicos, polisacáridos, hormonas vegetales, glucósidos, microelementos, etc., antibióticos encontrados en la stevia; stivisina, rebaudianina, glycimna.
- Las hojas de "stevia" han sido utilizadas por su sabor por los indígenas desde antes de la llegada de los españoles, de ellas se servían para endulzar alimentos y medicamentos o las masticaban por su dulzor.

- Actualmente se la encuentra en el comercio bajo diversas presentaciones, algunas de las cuales son: Yerbas mate compuestas, lo que evita el uso de azúcar en la infusión; como simple en herboristerías y dietéticas, y extractos.<sup>(21)</sup>

### Usos

- Útil para endulzar café, té, mate, jugos de frutas, refrescos, pastelería, dulces, pasta dental, helados, goma de mascar, etc.
- Se lo utiliza en la elaboración de productos dietéticos como cacao, galletitas, dulces, etc. en reemplazo de los endulzantes sintéticos, con el consiguiente beneficio para la salud.
- Resalta los sabores, usado con sales, ácidos orgánicos, amino ácidos, estos pueden ser mezclados para crear efecto sinérgico.
- Realza el aroma de las infusiones o alimentos donde se añade.
- Popularmente se confeccionan saquitos de yerba dulce para la elaboración de té digestivos. Una vez fría la bolsita suelen colocarla sobre los párpados o arrugas como elastizante de la piel.
- Culinariamente la stevia es picada y agregada sobre la verdura en cocción, cereales y ensaladas.

- También está siendo utilizada en cosméticos para la piel, para el tratamiento de la piel con manchas y granos (con este fin podemos encontrarla en Europa).<sup>(21)</sup>

### Beneficios para la salud

- Ideal para los diabéticos por no contener hidratos de carbono. En algunos países incluso se utiliza como tratamiento para mejorar la diabetes ya que parece regular los niveles de insulina. Actúa directamente, restaurando las células Beta del páncreas para que estas produzcan su propia insulina. Baja los niveles de glucosa en la sangre.
- La stevia disminuye también el deseo, apetencia o ansiedad por la comida por tomar dulces y grasas, por su acción en el conducto del hipotálamo y el estómago.
- Previene e inhibe la reproducción de bacterias y organismos infecciosos.
- Retarda la formación de placa dento-bacteriana: anti-caries (previene la caries).por eso se usa también para hacer enjuagues bucales y como componente de la pasta de dientes. Se pueden añadir una gotitas a las pasta de diente.
- También se ha reportado actividad antimicrobiana, no solo a nivel de la placa, sino frente a *Cándida albicans*, *E. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomona aeruginosa* y *Coryne bacterium difteriae*. Mejora la resistencia frente a resfriados y gripes.

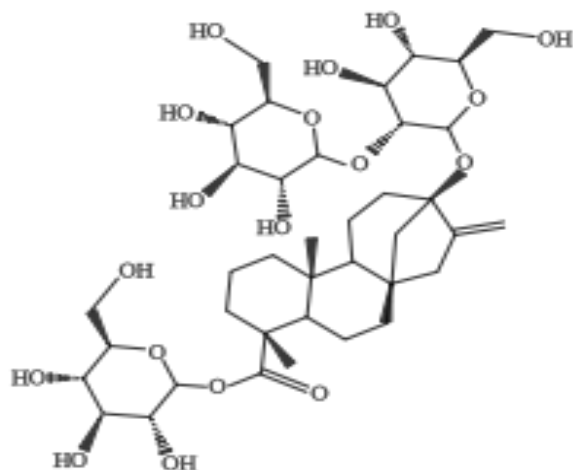
Por vía externa los extractos acuosos de yerba dulce han demostrado resultados preliminares beneficiosos en casos de seborrea, dermatitis, eczemas e incluso algunos casos de psoriasis. Cuando se aplica como una mascarilla facial produce un estiramiento y una suavidad efectiva de la piel, tensa las arrugas y ayuda en la cura de varios problemas de la piel.

- La stevia es un hipotensor suave.
- Es suavemente diurético. Mejora las funciones gastrointestinales.
- Puede ayudar en la desintoxicación del tabaco y del alcohol, ya que el té de stevia reduce el deseo hacia estos dos tóxicos.
- Por su parte los indígenas del Paraguay suelen atribuirle a sus hojas propiedades anticonceptivas.<sup>(24)</sup>

### Características edulcorantes del steviósido

La designación de steviósido, principio edulcorante de la especie, se debe a los investigadores franceses Bridel y Lavielle que en 1931 cristalizaron el principio edulcorante y determinaron que es 300 veces más dulce que el azúcar, y que no posee efectos tóxicos al realizar pruebas de laboratorio con animales.

Asimismo, se demostró que el steviósido es el edulcorante natural no nitrogenado más dulce que se encuentra en la naturaleza. El steviósido es un glucósido diterpeno de Masa molecular 804,80 y fórmula  $C_{38}H_{60}O_{18}$ . La estructura química fue dilucidada por Mosettig E. en 1963, siendo la aglucona el steviol. La estructura se muestra en la figura 1



**Figura 1** Fórmula general de los glucósidos de SteviaRebaudiana

Durante la década de 1970, investigadores japoneses de las Universidades de Hiroshima y Hokkaido identificaron otros principios edulcorantes en las hojas de Stevia: Rebaudiósidos A, B, C, D y E, Dulcósidos A y B (Tabla 2) y otros de menor importancia. El rebaudiósido A es el que presenta el mayor grado de dulzor (aproximadamente 350-400 veces más dulce que el azúcar) y, es por ello que, se procura seleccionar individuos con altos contenidos de este componente.<sup>(18)</sup>

Nombre	R 1	R 2
Steviol glucósidos más comunes		
Steviósido	-G	-G (2,1)G
Rebaudiósido A	-G	-G --(2,1)G (3,1)G
Rebaudiósido C (dulcósido B)	-G	-G --(2,1)R (3,1)G
Dulcósido A	-G	-G (2,1)R
Steviol glucósidos presentes a nivel de trazas		
Rebaudiósido D	-G (2,1)G	-G --(2,1)G (3,1)G
Rebaudiósido E	-G (2,1)G	-G (2,1)G
Estructura del esqueleto		
Steviol	-H	-OH

**Tabla 2** Steviol glucósidos presentes en la Steviarebaudiana

Se encuentra aprobado como aditivo por el Código Alimentario Nacional de Argentina, Brasil y Paraguay. Esta especie se encuentra monografía da en la 7° edición de la Farmacopea Nacional Argentina. Luego de algunos cabildeos fue aprobado por la FDA norteamericana como aditivo alimentario, aunque no se encuentra en el listado GRASS de hierbas seguras para consumo humano. Japón desde hace varios años lo emplea en la industria de alimentos de bajas calorías con singular éxito.

### Propiedades físico-químicas del steviósido

- **Resistencia al calor:** presenta estabilidad a las temperaturas habituales en el procesado de alimentos. Los cristales en estado de pureza funden a 238° C.
- **Alteración del color:** no se observa oscurecimiento, aún en las condiciones más rigurosas de procesado de alimentos.
- **Solubilidad:** es altamente soluble en agua, alcohol etílico y metílico e insoluble en éter.
- **Resistencia al pH:** es suficientemente estable entre pH 3 a 9.
- **Contenido de calorías:** no es metabolizado por el organismo, por lo tanto se convierte en no calórico, y es adecuado para usos dietéticos.
- **Capacidad osmótica:** presenta buenas propiedades osmóticas para la preparación de dulces.

- **Fermentabilidad:** no es fermentable, ni atacado por las bacterias orales. No es hidrolizable por *Aspergillus niger*, ni por el fermento seco de levaduras. Se hidroliza con ácido sulfúrico diluido y por diastazas.
- **No se oscurece,** no ocurren reacciones de oscurecimiento cuando son mezclados con aminoácidos o proteínas.
- **Otras propiedades:** Dentro de la medicina popular paraguaya se utiliza como hipoglucemiante, digestivo, cardiotónico, diurético, antiácido, etc.<sup>(24)</sup>

### Propiedades edulcorantes

La mayor parte de los autores coinciden en que el steviósido es 300 veces más dulce que la sacarosa y el rebaudiósido A, 400. Pero debido a las extraordinarias características de potenciar su dulzura por la acción de diversas sustancias comunes en la formulación de alimentos, tales como cloruro de sodio, leche, ácidos, etc., se puede fijar como valores razonables de poder edulcorante para la mezcla natural de glucósidos, un rango de 100 a 400, dependiendo de cada alimento.

Conjuntamente con el sabor dulce, el steviósido presenta un sabor secundario, persistente, definido como sabor a regaliz-mentol, detectable a altas concentraciones. Este sabor secundario es evidente en el extracto natural. El rebaudiósido A posee un sabor dulce más puro.

Este sabor no deseado se puede enmascarar con la utilización de combinaciones de otras sustancias edulcorantes. Los mejores resultados se obtienen con sacarosa y glucosa. Con el fin de suavizar la persistencia del sabor dulce, se obtienen buenos resultados con el agregado de fructuosa, glucosa, péptidos, aminoácidos, ácidos cítrico, acético, láctico, málico y tartárico.

Con respecto a la velocidad de percepción del sabor del steviósido, se observó que la curva de intensidad percibida en función del tiempo, tiene una gran similitud con la correspondiente a la sacarosa en lo que respecta a la ubicación del máximo, pero presenta una diferencia en la duración o persistencia del sabor, siendo menor, aunque la similitud es superior a la de cualquier otro edulcorante.<sup>(22)</sup>

### Inocuidad del steviósido

La primera prueba de inocuidad del steviósido es la utilización de las hojas de *Stevia* por los indígenas guaraníes durante varios siglos, y por los habitantes de Paraguay, hasta la actualidad, sin observarse efectos colaterales. Ya aislados los principios activos de la *Stevia*, comenzaron los ensayos de laboratorio con el fin de detectar posibles efectos toxicológicos. En 1931, observaron que tras la administración subcutánea del mismo en cobayos, no se producían afecciones hemolíticas ni otros efectos tóxicos. En 1968, informaron que suministrando una solución de steviósido a ratas, se observaba una reducción del 20 al 30 % de la fertilidad. Posteriormente, demostraron que dicho efecto no se debía al steviósido sino al dihidroesteviol, compuesto inexistente en las hojas de *Stevia* y producido durante la extracción o purificación defectuosas.

En Japón, previo a la utilización masiva del steviósido, se realizaron rigurosos ensayos que probaron su inocuidad. El Ministerio de Salud de Japón, coordinó un amplio estudio en el cual nueve grupos científicos estudiaron en forma independiente la acción del steviósido. Por unanimidad se concluyó que el steviósido, con un 90 % de pureza, no poseía actividad mutagénica o teratogénica, coincidiendo, además, con otros estudios realizados anteriormente.

### Informe Nutricional

Calorías: 0

Grasas saturadas: 0

Azúcares: 0

Colesterol: 0 <sup>(19)</sup>

### Fitonutrientes presentes en la Steviarebaudiana

ALUMINUM	Hoja 72 ppm
ASCORBIC-ACID	Hoja 110 ppm
ASH	Hoja 63,000 ppm
AUSTROINULIN	Planta
BETA-CAROTENE	Hoja 75 ppm
CALCIUM	Hoja 5,440 ppm
CHROMIUM	Hoja 39 ppm
COBALT	Hoja 25 ppm

DULCOSIDES	Planta
FAT	Hoja 19,000 ppm
FIBER	Hoja 152,000 ppm
IRON	Hoja 39 ppm
KILOCALORIES	Hoja 2,540 /kg
MAGNESIUM	Hoja 3,490 ppm
MANGANESE	Hoja 147 ppm
NIACIN	Hoja
PHOSPHORUS	Hoja 3,180 ppm
POTASSIUM	Hoja 17,800 ppm
PROTEIN	Hoja 112,000 ppm
REBAUDIOSIDES	Planta
RIBOFLAVIN	Hoja
SELENIUM	Hoja
SILICON	Hoja 132 ppm
SODIUM	Hoja 892 ppm
STEVIOL	Planta
STEVIOSIDE	Planta
THIAMIN	Hoja
TIN	Hoja 15 ppm
WATER Hoja	823,000 ppm
ZINC Hoja	(8)

## Proceso de Extracción



**Figura 2** Diagrama de Flujo del Proceso

### Trituración

Se realiza en forma manual, reduciendo las hojas secas a un tamaño de partículas adecuado para que haya mayor superficie de contacto. Triturar 500 g de hojas secas de stevia.

### Extracción

En un recipiente colocar 5 litros de agua y añadir los 500 g de hojas de stevia triturada y llevar a ebullición a 92°C de temperatura por 15 minutos.

### Filtración

Filtrar en un tamiz malla N° 60 y luego pasar el extracto por un tamiz malla N° 400. Pesar el residuo sólido.

### Clarificación

Añadir al extracto 75 g de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  agitar y dejar reposar hasta que se separe en dos fases.

### Filtración y Centrifugación

El sobrenadante filtrar en un tamiz malla N° 400 y el precipitado centrifugar por 10 minutos a 5000 rpm. Todo el líquido clarificado obtenido hacer burbujear con  $\text{CO}_2$  por 5 minutos para eliminar los residuos del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en forma de  $\text{Ca}_2\text{CO}_3$ , dejar reposar y filtrar al vacío con papel filtro. Se obtuvo un volumen de extracto de 2700 mL con una concentración de 3,8° Brix.

### Concentración

El extracto que contienen los glucósidos continúa con el proceso de concentración con la ayuda de un rotavapor al vacío a una temperatura de 70°C. Se mide las concentraciones con la ayuda de un refractómetro, hasta alcanzar las concentraciones deseadas. <sup>(18)</sup>

### Cándida

El Género Cándida comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular.

Solamente una docena de las especies pertenecientes al Género *Cándida* poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C. y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (*pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*.

### **Cándida albicans**

**Reino:** Hongo

**Filium:** Ascomycota

**Subfilium:** Ascomycotina

**Clase:** Ascomycetes

**Orden:** Saccharomycetales

**Familia:** Saccharomycetacea

**Genero:** *Candida*

**Especie:** *albicans*<sup>(7)</sup>

### **Sinonimia y binomios obsoletos**

- *Oidiumalbicans* C.P. Robin, (1853)
- *Saccharomyces albicans* (C.P. Robin) Reess, (1877)
- *Dematiumalbicans* (C.P. Robin) Laurent{?}, (1889)
- *Moniliaalbicans* (C.P. Robin) Zopf, (1890)
- *Parasaccharomycesalbicans* (C.P. Robin) Mello & L.G. Fern., (1918)

- *Myceloblastanonalbicans* (C.P. Robin) M. Ota, Japanese Journal of Dermatology and Urology 27: 170 (1927)
- *Mycotorulaalbicans* (C.P. Robin) Langeron&Talice, AnnlsParasit. hum. comp. 10: 44 (1932)
- *Syringosporaalbicans* (C.P. Robin) C.W. Dodge, (1935)
- *Procandidaalbicans* (C.P. Robin) E.K. Novák&Zsolt, Acta bot. hung. 7: 133 (1961).<sup>(9)</sup>

### **Descripción micológica**

Hongo dimorfo que forma largas pseudohifas, hifas y blastoconidios (células gemantessubesféricas de 3-8 x 2-7 µm). Asimilan y fermentan azúcares. Presentan numerosas clamidosporas unicelulares, redondas u ovaladas, con gruesa pared refringente (8-16 µm de diámetro), situadas al final de las hifas, pseudohifas o laterales sobre blastoconidios ovalados. Colonias de crecimientos rápidos, circulares, lisos, blancos o cremosos, pastosos y blandos, de bordes precisos, centro ligeramente prominente.

Suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí.

Las levaduras o blastosporas son microorganismos eucarióticos, las cuales se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación.



Este proceso de división implica la producción de nuevo material celular proveniente de la superficie de la blastospora.

Cuando el brote o yema ha crecido y se encuentra en su tamaño óptimo, se suscita la división celular y se forma un tabique o septo entre las dos células. La forma filamentosa del hongo (hifa), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes. Esta crece continuamente por extensión apical.<sup>(17)</sup>

La apariencia microscópica de todas las especies de *Cándida* es similar; todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Microscópicamente, *Cándida albicans* presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas.

La composición química de *Cándida albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable<sup>20</sup>. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono. La pared celular de *Cándida albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos Manán, Glucán y Quitina. Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos. El polisacárido manán representa aproximadamente entre 15,2% y 22,9% del peso seco y poco más de 40% de los polisacáridos de la pared celular del hongo.

El D-Glucán  $\beta$ -1-3 y el D-Glucán  $\beta$ -1-6 constituyen entre 47% y 60% del peso seco de la pared celular. Otros componentes han sido reportados, tales como proteínas en cantidades que oscilan entre 6% y 25%, lípidos entre 1% y 7% y Quitina entre 0,6% y 9% del peso de la pared celular.

El número de capas y su morfología varían; esta variación está relacionada con varios factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio, el medio de cultivo empleado para el crecimiento celular y los procedimientos de fijación. La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): Manoproteínas,  $\beta$ -Glucán-Quitina,  $\beta$ -Glucán, Manoproteínas y una capa de fibrillas.<sup>(14)</sup>

La membrana citoplasmática es una estructura que reviste gran importancia, ya que los antimicóticos actúan a nivel de la misma, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Esta presenta una doble capa compuesta por lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor.

Además de los lípidos, la membrana citoplasmática está compuesta por grandes cantidades de proteínas y carbohidratos en menor proporción. En el citoplasma, al igual que otras células eucarióticas, *Cándida albicans* presenta: ribosomas, mitocondrias con doble capa, gránulos de glucógeno y vacuolas que, contienen en algunas ocasiones cuerpos lipídicos y gránulos de polifosfato. El núcleo es típico de una célula eucariótica, con membrana nuclear limitante, uno o varios nucleolos, ADN y ARN y varios cromosomas.

El metabolismo de *Cándida albicans* se ha relacionado de una forma directa o indirecta con la patogenicidad, la morfología o con los efectos de los antimicóticos. El metabolismo de los carbohidratos juega un papel importante en la morfogénesis, en tanto que el metabolismo de aminoácidos y lípidos tiene poca importancia para el crecimiento de este microorganismo. <sup>(4)</sup>

#### Epidemiología

La incidencia de infecciones invasoras causadas por *Cándida* ha aumentado en forma importante en las últimas décadas como consecuencia del aumento de poblaciones de mayor riesgo, ya sea por su condición de inmuno-supresión, o por la utilización de procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos invasores. Sin embargo, el compromiso osteoarticular por *Cándida*, secundario a la invasión del torrente sanguíneo por el hongo, es una localización infrecuente.

Se sabe que el 60 % de las infecciones por *Cándida* son de origen endógeno, en 27 % son debidas a catéteres y sondas y el 13 % provienen de fuentes exógenas como alimentos, ventiladores, pisos, respiradores, además, es importante el contacto con el personal médico y paramédico. Esto se debe en gran parte a avances de la medicina, con la incorporación de nuevas modalidades terapéuticas. Algunas de ellas, como tratamientos antimicrobianos de amplio espectro, uso de nutrición parenteral, uso de catéteres intravenosos e intubación endotraqueal entre otros, son considerados factores de riesgo para esta infección. Con mayor frecuencia ocurren en pacientes que tienen condiciones de base tales como ser neonatos, prematuros, patología oncológica en quimioterapia, terapia inmunosupresora, ser sometidos a gran cirugía y estar afectados por enfermedades severas que requieren atención en una unidad de cuidados intensivos (UCI). <sup>(7)</sup>

#### Anatomía Patológica y Patogenia

*Cándida albicans* presenta una serie de factores de virulencia que facilitan la colonización y la infección del hospedador. Entre ellos cabe mencionar el dimorfismo o capacidad del hongo para desarrollar un crecimiento levaduriforme y filamentosos, el cual favorece la evasión de los mecanismos defensivos del hospedador. También existen otros tipos de factores de virulencia, tales como:

- **Adhesinas:** que permiten la unión de la célula fúngica a los receptores del hospedador o a materiales plásticos utilizados en medicina, como las prótesis y los catéteres.
- **Proteinasas y fosfolipasas:** Las cuales corresponden a enzimas que favorecen la diseminación por los tejidos del hospedador.
- **Tigmotropismo:** que permite encontrar discontinuidades entre las células y penetrar en los tejidos.
- **Producción de toxinas** y sustancias inmunosupresoras.

Cabe señalar que la pared celular de *Cándida albicans* es esencial para su patogenicidad desde el momento en que esta, es requerida para su crecimiento. Además la pared celular le proporciona rigidez y protección a esta especie.

La adherencia de este hongo es superior a la de otras especies de *Cándida* y es aumentada por la existencia de una lesión epitelial por los carbohidratos y por la disminución de la flora bacteriana saprofita.

Estos factores de virulencia están controlados por diferentes genes que se expresan en un número determinado y momento concreto y que determinan el fenotipo y virulencia de cada aislamiento, entre los genes asociados a la virulencia se encuentra el gen de la hexosaminidasa (HEX1), también se encuentran genes de proteínas asparticas (SAP1, SAP2, SAP3, SAP4) y un gen que confiere capacidad de producir tubos germinales y aumentar la adhesión.

Algunas descripciones más frecuentes de candidiasis en anatomía patológica son:

- **Candidiasis cutáneas:** Se produce una dermatitis crónica en la que el hongo se extiende hasta el estrato corneo del epitelio.
- **Candidiasis sistémicas:** *Cándida albicans* forma micro abscesos en los que se aprecian grandes cantidades de hifas y levaduras.<sup>(16)</sup>

## Clínica

Debido al incremento de infecciones por *Cándida albicans*, actualmente se describe un número importante de manifestaciones clínicas, de los cuales solo se mencionaran algunos debido a la extensa manifestación sistémica que presenta esta especie.

**Tegumentaria:** La candidiasis pseudomembranosa aguda, Algorra o “muguet” es la forma más común, se caracteriza por la presencia de una pseudomembrana blanca cremosa formada por la levadura y células epiteliales.

En la clínica este hongo puede cursar de forma asintomático o presentar cuadros de disgeusia, que es una alteración en la percepción del sabor de los alimentos y bebidas. También puede provocar cuadros de ardor o quemazón. El lugar que se encuentra afectado por esta especie es en la mucosa bucal, labios y paladar.

**Vaginitis:** La infección por *Cándida albicans* es causa frecuente de vaginitis en mujeres, sean o no inmunodeficientes, este hongo afecta la piel del tejido vaginal. Las típicas señales de infección en este cuadro clínico son: un flujo vaginal abundante de color blanco o amarillento con consistencia de queso crema, también puede causar picazón, comezón y ardor.

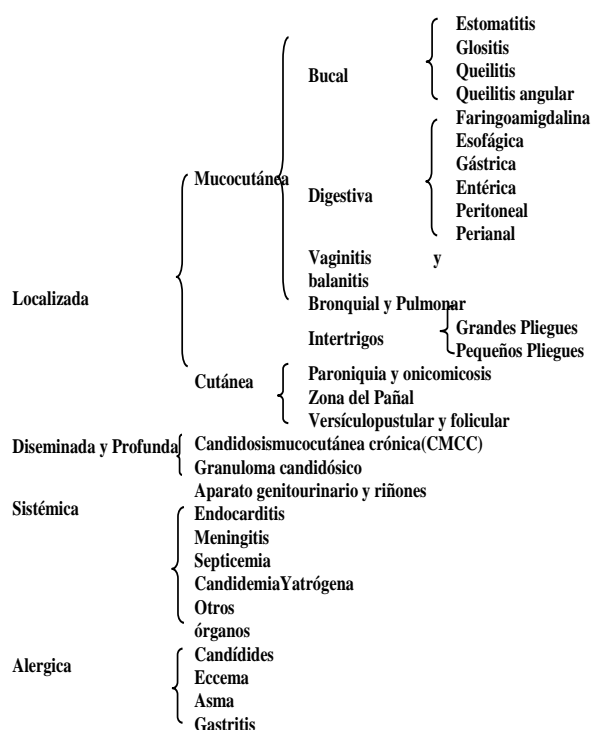
**Candidiasis del sistema nervioso central:** La meningitis por *Cándida albicans* se observa siempre en pacientes inmunodeprimidos, en particular en el SIDA, y es secundaria a un foco de infección en otro órgano. Los síntomas de meningitis por *Cándida albicans* no difieren de la de otros microorganismos.

**Balanitis:** Corresponde a una infección de la mucosa del glande y de la cara interna del prepucio por *Cándida albicans*.

**Intertrigo candidiasico:** Corresponde a una infección de la piel de los grandes pliegues cutáneos por *Cándida albicans*. En este tipo de cuadro clínico las personas que se encuentran más afectadas son las personas obesas que están encamadas y/o bajo tratamiento antibiótico.

**Paroniquia candidiasica o panadizo crónico:** Se manifiesta como una infección del borde proximal de la uña por *Cándida albicans*.

**Candidiasis cardiaca:** La infección cardiaca más frecuente es la endocarditis. El 41% de están producidas por especies de *Cándidas* diferentes de *Cándida albicans*.<sup>(4)</sup>



**Figura 3** Clasificación de candidosis

## Diagnóstico

Debido a la presencia normal de este agente en el organismo, el diagnóstico debe estructurarse conjuntamente con las manifestaciones clínicas y la respuesta al tratamiento. El cultivo, por sí solo, únicamente nos informa de la existencia de levaduras, pero no diferencia la colonización de la infección. Por tanto, la observación de levaduras en el examen directo es imprescindible para establecer el diagnóstico de certeza.

La toma de muestras se lleva a cabo de diferentes maneras: frotis directo con torunda estéril, enjuague bucal con solución salina (para cuantificación), impregnación con un cuadrado de espuma estéril (para cuantificación), biopsia.

El examen directo con solución salina y azul de lacto fenol puede ser útil para el diagnóstico rápido de la candidiasis oral pseudomembranosa, pero las técnicas de cultivo suelen ser más sensibles, ya que la microscopía directa precisa de la existencia de un número significativo de levaduras. La tinción de Gram mejora mucho la observación en fresco, pues pueden distinguirse más fácilmente las células levaduriformes. Buen rendimiento ofrece también la tinción con fluorocromos (rojo Congo, blanco de calcoflúor). La presencia de pseudohifas o hifas y células inflamatorias en un frotis se valora más que la de blastosporas en relación con una posible infección. La presencia de hifas o pseudohifas sugiere infección por *Cándida albicans*.

El examen histológico es esencial para el diagnóstico de candidiasis hiperplásica, y muy útil en la esofagitis. Debido a la proliferación de levaduras en los tejidos, las muestras de biopsias deben procesarse rápidamente. Para la detección de levaduras en estas muestras, la tinción con hematoxilina-eosina no es muy sensible.

Por lo que debe utilizarse otra técnica como la del ácido peryódico de Schiff (PAS), que pone de manifiesto la presencia de hifas y blastosporas que se ramifican en las capas superficiales del epitelio.<sup>(7)</sup>

El cultivo es imprescindible para establecer la etiología y efectuar pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, así como para llevar a cabo estudios de tipificación molecular. Un cultivo positivo sólo demuestra la presencia de levaduras, pero no de infección, sobre todo en ausencia de clínica sugestiva.

El agar glucosado de Sabouraud con antibióticos es un buen medio para el cultivo primario de muestras orofaríngeas, pero dada la similar morfología colonial que exhiben las distintas especies de levaduras es deseable el empleo de un medio capaz de diferenciar las especies más frecuentes y detectar cultivos mixtos, como es el CHRO Magar Cándida, donde se identifican muy bien *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*.

La producción de tubos germinativos y de clamidosporas, son pruebas muy rentables para identificar a *Cándida albicans*. La producción de tubos germinativos es además una prueba sencilla y rápida (2-4 horas) que puede obviar otras más lentas. La producción de clamidosporas en medio de agar harina de maíz, agar de Wolin-Bevis, agar arroz o agar patata-zanahoria, es más rentable para la confirmación de *Cándida albicans* cuando la prueba del tubo germinativo es negativa o se presta a confusión, pero requiere más tiempo.

Actualmente, existen técnicas de aglutinación que ofrecen una buena alternativa diagnóstica por su rapidez (5 minutos), sensibilidad y especificidad.

Así, el test Bichro-LatexAlbicans utiliza partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales que reaccionan con antígenos de *Cándida albicans*, y el llamado test Krusei color va dirigido a la identificación de *C. krusei*; el test CandidaCheck posibilita identificar las especies más frecuentes en clínica y detectar los serotipos A y B de *Cándida albicans*.

El estudio de la actividad enzimática sobre sustratos concretos se ha aplicado desde hace unos años a la identificación rápida de levaduras, sobre todo de *Cándida albicans*.

Existen métodos rápidos con sustratos fluorogénicos y cromogénicos, con una sensibilidad y especificidad similar a la prueba del tubo germinativo y más rápido que ésta, pero menos específicos que la asimilación de compuestos de carbono.<sup>(7)</sup>

### Tratamiento

El tratamiento podrá ser tópico o sistémico, según la forma clínica de que se trate, entre los tratamientos tópicos tenemos a la Nistatina, Ketoconazol, Miconazol, Clotrimazol, Sulconazol, Bifonazol, Isoconazol y entre los sistémicos están la Anfotericina B, Ketoconazol, Fluconazol e Itraconazol.<sup>(16)</sup>

### Nistatina y anfotericina B

La nistatina en forma tópica es efectiva contra la *Cándida albicans*. Cuando se administra por vía - oral es mínima, siendo su acción limitada al intestino.

La duración del tratamiento es de 7- 10 días y este debe mantenerse como mínimo 2 días después de desaparecer las lesiones.

La anfotericina B es efectiva en las micosis profundas. En aquellos casos de infección micótica en pacientes portadores de prótesis.

### Fluconazol

El fluconazol es miembro de la familia de agentes antifúngicostriazólicos; es un inhibidor potente y específico de la síntesis de esteroides en los hongos.

El fluconazol, administrado tanto por vía oral como intravenosa, es activo en una variedad de infecciones fúngicas en animales.

Las propiedades farmacodinámicas de fluconazol son similares luego de la administración por vía oral o intravenosa.

Esta indicado en Candidiasis orofaríngea, esofágica, infecciones por cándida del tracto urinario, peritonitis, y formas sistémicas de candidiasis.

Pacientes inmunocompetentes, pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), trasplante de órganos o con otras causas de inmunodepresión.

### **Ketoconazol**

Es una droga fungistática, que puede ser fungicida, según su concentración. Inhibe la biosíntesis de ergosterol u otros esteroides, lesionando la membrana de la pared celular del hongo y alterando su permeabilidad; inhibe la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos de los hongos y la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa.

En candidiasis por *Cándida albicans*, inhibe la transformación de los blastosporos en su forma micelial invasora.

Debe administrarse con alimentos para reducir las náuseas y vómitos, facilitando su absorción.

### **Miconazol**

Es un fungistático, Actúa por inhibición de la biosíntesis del ergosterol o de otros esteroides, lo que lesiona la membrana de la pared celular fúngica y altera su permeabilidad; como consecuencia, puede producirse la pérdida de orgánulos intracelulares esenciales.

En *Cándida albicans* inhibe la transformación de las blastosporas en la forma inicial invasora.

Es un fármaco de segunda elección, para el tratamiento de la candidiasis mucocutánea crónica.

Otros productos útiles, son los azoles tópicos para el tratamiento de candidiasis superficial son, clotrimazol o econazol.

### **Marco operativo**

#### **Tipo de investigación**

El tipo de investigación que se realizó según la finalidad fue Descriptivo porque se recogieron los datos sobre la base teórica, se expone, se resume y se analiza la información de manera cuidadosa. Según la Secuencia Temporal fue Transversal porque se realizó en un solo momento dado. Según el Control de asignación a los factores de estudio fue Experimental o Exploratoria porque la investigación se efectuó sobre un tema poco estudiado además que se controlaron ciertas situaciones. Según el inicio del estudio en relación a la cronología de los hechos fue Prospectivo porque los hechos se observan y se registran.

#### **Fijación de límites**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Instituto Experimental de Biología ubicado en la calle Dalence N<sup>a</sup> 207. En el Laboratorio de Microbiología y Virología Clínica.

El tiempo de estudio de la investigación se realizó entre los meses de septiembre del 2011 finalizando en abril del 2012. El universo de estudio está constituido por las cepas de hongos del género *Cándida albicans*. La recolección de las muestras se realizó en el Hospital Gineco-Ostétrico en pacientes que acudieron a consulta externa de ginecología.

## Recolección de la información

La recolección de la información se obtuvo de manera directa con la identificación de la actividad antimicótica de la Steviarebaudiana contra la *Cándida albicans*, como fuentes primarias y como fuentes secundarias fue la revisión bibliográfica, es decir, libros, revistas, manuales, folletos e internet y toda información acerca de la actividad antimicótica de la Steviarebaudiana contra la *Cándida albicans*.

## Métodos y técnicas

### Métodos

Para el desarrollo del trabajo investigativo, se utilizaron los siguientes métodos:

- **Científico.-** Con su utilización se obtuvo informaciones lógicas y concretas, mediante el uso de conceptos propios de la ciencia con argumentos comprobados.
- **Deductivo.-** Este método se lo utilizó en el desarrollo de los antecedentes generales de este proyecto.
- **Inductivo.-** Con la aplicación del método inductivo se logró generalizar los datos obtenidos.
- **Experimental.-** Se empleó para realizar la parte operacional de la investigación.
- **Observacional.-** Se la utilizó en la investigación de campo para constatar la acción antimicótica de la stevia.
- **Estadístico.-** Se lo empleó para tabular la información obtenida de los resultados y elaborar los gráficos respectivos.

## Técnicas

### Obtención del Extracto de SteviaRebaudiana

#### Materia Prima

- Hojas de SteviaRebaudiana.

La materia prima se obtuvo de un cultivo realizado en la ciudad de Santa Cruz, cosechado a fines de diciembre, secado durante el mes de enero y enviada para la investigación. Mantenido en lugar fresco y seco.

#### Reactivos

- $\text{Ca}(\text{OH})_2$
- $\text{CO}_2$

#### Materiales y Equipos

- Balanza
- Fuente de Plástico
- Probeta
- Recipiente de Aluminio
- Cocina
- Termómetro
- Tamiz malla N° 60
- Tamiz malla N°400
- Matraz Erlenmeyer
- Centrifugadora
- Matraz kitasato
- Embudo buchner

- Papel filtro
- Bomba de vacío
- Rota vapor
- Refractómetro

- **Concentración.**-El extracto continúa con el proceso de concentración con la ayuda de un rotavapor al vacío a una temperatura de 70°C. Medir las concentraciones con un refractómetro. Se obtiene los extractos al 10%, 20% y 30%.

### Procedimiento

- **Trituración.**-Se realizó en forma manual, reduciendo las hojas secas a un tamaño de partículas adecuadas, para que haya mayor superficie de contacto. Se trituró 500 g de hojas secas de Stevia.
- **Extracción.**-En un recipiente se colocó 5 litros de agua y se añadió los 500 g de hojas de stevia triturada y se llevó a ebullición a 92°C de temperatura por 15 minutos.
- **Filtración.**-Se filtró en un tamiz malla N° 60 y luego se pasó el extracto por un tamiz malla N° 400.
- **Clarificación.**-Al extracto se añadió 75 g de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se agitó y se dejó reposar hasta que se separe en dos fases.
- **Filtración y Centrifugación.**-El sobrenadante se filtró en un tamiz malla N° 400 y el precipitado se centrifugó por 10 minutos a 5000 rpm. Todo el líquido clarificado obtenido se hace burbujear con  $\text{CO}_2$  por 5 minutos para eliminar los residuos del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en forma de  $\text{Ca}_2\text{CO}_3$ , se dejó reposar y se filtró al vacío con papel filtro. Se obtuvo un volumen de extracto de 3700mL con una concentración de 4%.

### Conformación de los discos

#### Materiales y Equipos

- Papel filtro
- Perforadora
- Papel madera
- Horno Pasteur

#### Procedimiento

Doblar en cuatro el papel filtro, con una perforadora limpia se procedió a formar los discos con un diámetro de 6 mm, los cuales se colocaron en un sobre de papel madera, se llevó a esterilizar y quedaron listos para su uso.

#### Preparación de medio de cultivo: Sabouraud Glucosado Agar

Medio utilizado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. También es útil para el cultivo de levaduras.

#### Fundamento

Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas. En el medio de cultivo, la Pluripeptona y la glucosa, son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de Cloranfenicol y el pH ácido, favorecen el crecimiento de hongos por sobre el de bacterias.



Además, al medio de cultivo, pueden agregarse otros agentes selectivos de crecimiento.

Fórmula (en gramos por litro)	
Pluripeptona	10.0
Glucosa	40.0
Cloranfenicol	0.05
Agar	15.0

**Tabla 3** Formula en gramos por litro para el Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos

- **Características del medio.**- Medio preparado: ámbar claro, ligeramente opalescente sin ningún precipitado.
- **Almacenamiento.**- Medio deshidratado: a 10-35°C. Medio preparado: a 2-8°C.

### Materiales y Equipos

- Balanza
- Espátula
- Probeta
- Matraz Erlenmeyer
- Hornilla
- Auto clave
- Tubos de ensayo
- Cajas Petri

### Procedimiento

Suspender 65 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar agitando frecuentemente y hervir 1 minuto hasta disolver. Esterilizar 15 minutos a 118-121°C. Mantener en lugar fresco, pues la exposición al calor hidroliza los componentes. Distribuir en placas o en tubos de ensayo. pH final:  $5.6 \pm 0.2$ .

### Toma de muestra de flujo vaginal

Con un hisopo estéril, se realizó la obtención de muestra tomada del fondo del saco y/o endocervix.

### Aislamiento y Cultivo de la muestra

### Materiales y Equipos

- Hisopo
- Tubo de Ensayo con medio de cultivo
- Estufa

### Procedimiento

Se realizó la siembra, por agotamiento, con el hisopo utilizado en la toma de muestra, en el medio de cultivo Sabouraud Glucosado Agar en tubo de pico de flauta anteriormente preparado. Se incubó a 37°C de 24 a 72 horas.

Consideramos la presencia de colonias blanco-amarillentas, cremosas, brillantes, redondeadas, para realizar la prueba de identificación.

## Identificación de las Cepas de *Candidaalbicans*

### Prueba del Tubo Germinativo

#### Fundamento

La formación del Tubo Germinativo se basa en la búsqueda del crecimiento de filamentos finos o tubo germinativos que crece en una célula vida.

#### Materiales y Equipos

- Asa Bacteriológica
- Mechero
- Tubo de ensayo
- Pipeta
- Estufa
- Porta objeto
- Cubre objeto
- Microscopio

#### Procedimiento

En un tubo de ensayo se colocó 0.5 mL de suero humano, con un asa bacteriológica se recogió de 1 a 3 colonias, cultivada anteriormente en Sabouraud Glucosado Agar en tubo de pico de flauta, una vez realizada la suspensión, se incubo a 37°C durante 3 horas. Transcurrido el tiempo requerido, con 2 gotas de la suspensión se llevó a la observación microscópica, con objetivo de 10x y 40x.

Las lecturas fueron positivas con la presencia de tubos germinativos, es decir, células con apéndices en uno de sus extremos.

#### Técnica de Difusión de Disco

#### Preparación del inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo se utiliza el Sulfato de bario que equivale a 0.5 en la escala nefelometricade McFarland.

Preparar este estándar mezclando 99.5 mL de ácido sulfúrico (0.18M) y 0.5 mL de cloruro de bario (0.048M). Para confirmar la densidad puede utilizarse un espectrofotómetro en el que una absorbancia a 625 nm debería ser igual a 0.08-0.10 para 0.5 McFarland.

Para trabajar debe alicuotar 4 a 6 ml en tubos de tapa rosca, que luego deben ser guardados a T° ambiente y en lugar oscuro.El sulfato de bario debe ser reemplazado mensualmente, salvo que la verificación de densidad todavía sea óptima.

El inóculo se preparó escogiendo 3 a 5 colonias aisladas a partir de una de un cultivo realizado anteriormente. Agitar el inóculo hasta obtener una solución homogénea hasta alcanzar la turbidez de 0.5 McFarland ( $1.2 \times 10^8$  UFC/mL) ajustar este aspecto si es necesario con solución salina hasta conseguir la turbidez deseada.

#### Siembra

Con un hisopo estéril previamente humedecido con el inoculo proceder a sembrar sobre la superficie de una caja Petri con Sabouraud Glucosado Agar, teniendo la precaución de no resembrar sobre aquellas superficies ya inoculadas (hacer rotar la caja sobre 60°) dejar reposar de 3 a 5 minutos para luego colocar los discos embebidos con el extracto de Stevia.

### Colocado de discos

Se utilizan los discos que se prepararon con anterioridad y esterilizados. En una caja Petri estéril se dispuso los discos de papel filtro y el extracto de Stevia para embeber los discos.

Colocar 1 disco en cada caja de Petri. Completada esta labor dejar reposar la caja Petri durante 15 minutos para luego recién voltearla y depositarla en la estufa de incubación a 37°C por 24 horas.

### Lectura

Con una regla se midieron los halos de inhibición que se hayan producido (debe medir el diámetro teniendo la precaución de poner una superficie negra para que sirva de contraste).

Compare las lecturas con los halos de inhibición que se hayan producido con el Ketoconazol e intérprete. Se realizó esta técnica para las diferentes concentraciones (10%, 20% y 30%) del extracto de Stevia y para el Ketoconazol.

### Procesamiento de la información

La revisión de la información está en base a la información obtenida en la experimentación realizada, se clasificó en escalas cualitativas y cuantitativas de acuerdo a lo que nos interesa determinar en el estudio, el recuento se realizó manualmente para luego transformar resultados obtenidos con la ayuda del programa Excel. La presentación estará a través de cuadros y gráficos estadísticos representativos.

### Análisis de la información

Después de haber concluido el procesamiento de la información, se procedió a analizar los resultados obtenidos, dirigido a nuestro problema de investigación al cual se quiere dar respuesta.

### Resultados

#### Se obtuvieron los siguientes resultados

Los diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Steviarebaudiana al 10%, sobre la siembra de *Cándida albicans* de las 10 muestras, estuvieron entre 10 y 15 mm con un promedio de 12 mm.

Los diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Steviarebaudiana al 20%, sobre la siembra de *Cándida albicans* de las 10 muestras, estuvieron entre 12 y 18 mm con un promedio de 16 mm.

Los diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Steviarebaudiana al 30%, sobre la siembra de *Cándida albicans* de las 10 muestras estuvieron entre 16 y 23 mm con un promedio de 20mm.

Los diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el Ketoconazol sobre la siembra de *Cándida albicans* de las 10 muestras estuvieron entre 23 y 28 mm con un promedio de 26 mm.

Nº Muestra	Diámetro del Halo
1	15 mm
2	10 mm
3	12 mm
4	15 mm
5	10 mm
6	11 mm
7	10 mm
8	14 mm
9	15 mm
10	10 mm
Promedio	12 mm

**Tabla 4** Diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Steviarebaudiana al 10%, sobre la siembra de *Cándida albicans*

N° Muestra	Diámetro del Halo
1	18 mm
2	14 mm
3	17 mm
4	17 mm
5	18 mm
6	13 mm
7	12 mm
8	16 mm
9	17 mm
10	17 mm
Promedio	16 mm

**Tabla 5** Diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Steviarebaudiana al 20%, sobre la siembra de *Cándida albicans*

N° Muestra	Diámetro del Halo
1	23 mm
2	19 mm
3	21 mm
4	22 mm
5	21 mm
6	18 mm
7	16 mm
8	18 mm
9	21 mm
10	20 mm
Promedio	20 mm

**Tabla 6** Diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Steviarebaudiana al 30%, sobre la siembra de *Cándida albicans*

N° Muestra	Diámetro del Halo
1	28 mm
2	25 mm
3	28 mm
4	30 mm
5	28 mm
6	23 mm
7	24 mm
8	26 mm
9	26 mm
10	25 mm
Promedio	26 mm

**Tabla 7** Diámetros de los halos de inhibición formados, por disco embebidos con el ketoconazol, sobre la siembra de *Cándida albicans*

	Promedio Diámetro del Halo
Extracto al 10 %	12 mm
Extracto al 20 %	16 mm
Extracto al 30 %	20 mm
Ketoconazol	26mm

**Tabla 8** Promedio del diámetros de los halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de steviarebaudiana al 10%, 20%, 30% y ketoconazol, sobre la siembra de *Cándida albicans*

### Análisis y discusión

El análisis y discusión de los resultados obtenidos sobre la actividad antimicótica del extracto de stevia sobre la *Cándida albicans* se puntualizan a continuación sobre los datos obtenidos:

- En las pruebas realizadas se comprobó la actividad antimicótica del extracto de stevia sobre la *Cándida albicans* tomando en cuenta los diámetros de los Halos de inhibición formados, por disco embebidos con el extracto de Stevia a las diferentes concentraciones.
- Se considera que la *Cándida albicans* es sensible al extracto de Stevia al 30% ya que se formó un halo de inhibición promedio de 20 mm comparado con el halo de inhibición formado con el antimicótico Ketoconazol que fue de 26 mm de diámetro promedio.

### Conclusiones

El análisis de los resultados del presente trabajo investigativo permite llegar a las siguientes conclusiones:

- El extracto de Steviarebaudiana si tiene actividad antimicótica frente a la *Cándida albicans*, demostrándose por la formación del halo de inhibición alrededor de los discos embebidos con extracto de Steviarebaudiana a las diferentes concentraciones, sobre la siembra de *Cándida albicans*.
- Se evidenció que a mayor concentración del extracto de Steviarebaudiana mayor es el diámetro del halo de inhibición formado.
- Se determinó que el tamaño del halo de inhibición va en forma creciente gradual según va aumentando la concentración del extracto de stevia.
- Se obtuvieron los extractos de Steviarebaudiana al 10%, 20% y 30% de concentración.
- Se cultivaron y aislaron las colonias de la *Cándida albicans*.
- Se comparó la sensibilidad de la propiedad antimicótica del extracto de Steviarebaudiana con el Ketoconazol contra la *Cándida albicans*, donde se confirma la sensibilidad de la *Cándida albicans* frente al Ketoconazol por la formación del halo de inhibición que fue similar al halo de inhibición formado por extracto de Steviarebaudiana al 30%.
- Se sugiere realizar pruebas para comprobar su actividad antimicrobiana contra las siguientes bacterias: *E. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Corynebacterium difteriae* que son mencionadas en la bibliografía.
- Realizar una buena publicidad y promoción, a fin de lograr difundir las bondades en la salud, de la stevia.
- Que se realicen investigaciones para verificar si las demás acciones terapéuticas de la stevia, mencionadas en la literatura, son verdaderas.

### Agradecimiento

Los investigadores agradecen a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo.

### Referencias

Andrade Padilla María Bernarda; Identificación de las especies del género *Cándida* en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al Hospital Gineco-Obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel; Sucre 2011.

Arenas Roberto; Micología, Medica Ilustrada; Segunda Edición, 2003.

Atalaya Colque Reina, Morales Ávila Mary Luz; Prevalencia de Candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al Hospital Jaime Mendoza, Sucre enero – agosto 2009.

### 9.1 Recomendaciones

De manera general, a continuación se proporcionan las siguientes recomendaciones:

- Se recomienda efectuar estudios sobre la forma farmacéutica más apropiada para la aplicación de la stevia sobre candidiasis.

Casanova Josep M.; Candidiasis; Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida. <http://web.udl.es/usuarios/dermatol/ProtocolosWeb/Infecciones/InfeccionesMicoticas/Candidiasis.htm>

Correo Del Sur / Sucrejueves, 10 de noviembre de 2011 Anuncian la llegada de financiadores para cultivar estevia.

Correo Del Sur / Sucre; martes, 15 de noviembre de 2011 Producción de estevia no cubre ni el 5% de la demanda.

Díaz Francisco Javier; Fundamentos Básicos de Medicina, Micología de las Infecciones Humanas; Edición 2007.

[edellwaisylastevia.blogcindario.com/2009/04/0001-tod-sobre-la-stevia.html](http://edellwaisylastevia.blogcindario.com/2009/04/0001-tod-sobre-la-stevia.html)

[es.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans](http://es.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans)

[es.wikipedia.org/wiki/Stevia](http://es.wikipedia.org/wiki/Stevia)

Honorable Alcaldía Municipal de Sucre. [www.sucre.gob.bo/pdm-2010](http://www.sucre.gob.bo/pdm-2010)

Instituto Nacional de Estadística

La Patria, Noticias de Bolivia, Periódico de Circulación Nacional. Martes 11 de octubre de 2011, La tuberculosis y la micosis diezman a la comunidad Yuqui.

Ministerio de Salud y Deportes, Sistema Nacional de Información en Salud y Vigilancia Epidemiológica SNIS. Obtenido en: <http://www.sns.gob.bo/snis/default.aspx>

RED

Procosi [www.procosi.org/index.php?mc=103&nc=&next\\_p=1&cod=8&cod\\_reg=9](http://www.procosi.org/index.php?mc=103&nc=&next_p=1&cod=8&cod_reg=9)

Romero Cabello Raúl; Microbiología y Parasitología Humana; Bases Etiológicas de las Enfermedades Infecciosas y Parasitarias; Tercera Edición 2007.

Síntesis del Informe Técnico, Desarrollo Agroindustrial de la Stevia Rebaudiana Bertoni en Los Yungas de La Paz.

Soto Alicia Ester; Revista de Ciencias Agrarias y Tecnología de los Alimentos Vol. 20-2002; Trabajo de Investigación; Extracción de los Principios Edulcorantes de la Stevia Rebaudiana.

[www.alimentacion-sana.com.ar/portal%20nuevo/compresano/plantillas/stevia02.htm](http://www.alimentacion-sana.com.ar/portal%20nuevo/compresano/plantillas/stevia02.htm)

[www.detodounpocotv.com/yerbas/caahee.htm](http://www.detodounpocotv.com/yerbas/caahee.htm)

[www.end-stevia.com/recetas.asp](http://www.end-stevia.com/recetas.asp)

[www.monografias.com/trabajos13/estevios/estevios.shtml](http://www.monografias.com/trabajos13/estevios/estevios.shtml)

[www.monografias.com/trabajos82/creacion-empresa-endulzante-planta-stevia/creacion-empresa-endulzante-planta-stevia2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos82/creacion-empresa-endulzante-planta-stevia/creacion-empresa-endulzante-planta-stevia2.shtml)

[www.stevia.com.mx/](http://www.stevia.com.mx/)

[www.stevalifebolivia.com](http://www.stevalifebolivia.com)

## Instrucciones para Autores

A. Envío de artículos con las áreas de Energía Química y Física

B. La edición del artículo debe cumplir las siguientes características:

- Redactados en español o en inglés (preferentemente). Sin embargo, es obligatorio presentar el título y el resumen en ambos idiomas, así como las palabras clave.

- Tipografía de texto en Times New Roman #12 (en títulos- Negritas) y con cursiva (subtítulos- Negritas) #12 (en texto) y # 9 (en citas al pie de página), justificado en formato Word. Con Márgenes Estándar y espaciado sencillo.

- Usar tipografía Calibre Math (en ecuaciones), con numeración subsecuente y alineación derecha: Ejemplo;

$$\sigma \in \Sigma: H\sigma = \bigcap_{s < \sigma} Hs \quad (1)$$

- Comenzar con una introducción que explique el tema y terminar con una sección de conclusiones.

- Los artículos son revisados por los miembros del Comité Editorial y por dos dictaminadores anónimos. El dictamen será inapelable en todos los casos. Una vez notificada la aceptación o rechazo de un trabajo, su aceptación final estará condicionada al cumplimiento de las modificaciones de estilo, forma y contenido que el editor haya comunicado a los autores. Los autores son responsables del contenido del trabajo y el correcto uso de las referencias que en ellos se citen. La revista se reserva el derecho de hacer los cambios editoriales requeridos para adecuar los textos a nuestra política editorial.

C. Los artículos pueden ser elaborados por cuenta propia o patrocinados por instituciones educativas ó empresariales. El proceso de evaluación del manuscrito no comprenderá más de veinte días hábiles a partir de la fecha de su recepción.

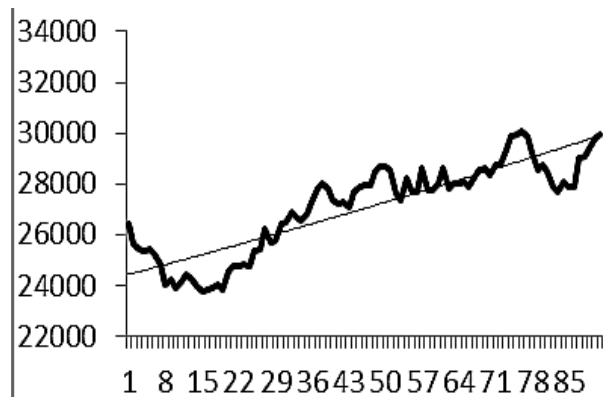
D. La identificación de la autoría deberá aparecer únicamente en una primera página eliminable, con el objeto de asegurar que el proceso de selección sea anónimo.

E. Los cuadros, gráficos y figuras de apoyo deberán cumplir lo siguiente:

- Deberán explicarse por sí mismos (sin necesidad de recurrir al texto para su comprensión), sin incluir abreviaturas, indicando claramente el título y fuente de consulta con referencia abajo con alineación izquierda en tipografía número 9 con negritas.

- Todo el material de apoyo será en escala de grises y con tamaño máximo de 8cm de anchura por 23cm de altura o menos dimensión, además de contener todo el contenido editable

- Las tablas deberán ser simples y exponer información relevante. Prototipo;



Gráfica 1. Tendencia determinista versus estocástica

F. Las referencias bibliográficas se incorporarán al final del documento con estilo APA.

La lista de referencias bibliográficas debe corresponder con las citas en el documento.

G. Las notas a pie de página, que deberán ser usadas sólo excepcionalmente para proveer información esencial.

H. Una vez aceptado el artículo en su versión final, la revista enviará al autor las pruebas para su revisión. ECORFAN-Bolivia únicamente aceptará la corrección de erratas y errores u omisiones provenientes del proceso de edición de la revista reservándose en su totalidad los derechos de autor y difusión de contenido. No se aceptarán supresiones, sustituciones o añadidos que alteren la formación del artículo. El autor tendrá un plazo máximo de 10 días naturales para dicha revisión. De otra forma, se considera que el (los) autor(es) está(n) de acuerdo con las modificaciones hechas.

I. Anexar los Formatos de Originalidad y Autorización, con identificación del Artículo, autor (s) y firma autógrafa, de esta manera se entiende que dicho artículo no está postulado para publicación simultáneamente en otras revistas u órganos editoriales.



**Formato de Originalidad**



Sucre, Chuquisaca a \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 20\_\_\_\_

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables por lo que deberán firmar los autores antes de iniciar el proceso de revisión por pares con la reivindicación de ORIGINALIDAD de la siguiente Obra.

Artículo (Article):

---

Firma (Signature):

---

Nombre (Name)

**Formato de Autorización**



Sucre, Chuquisaca a \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 20 \_\_\_\_

Entiendo y acepto que los resultados de la dictaminación son inapelables. En caso de ser aceptado para su publicación, autorizo a ECORFAN-Bolivia a difundir mi trabajo en las redes electrónicas, reimpresiones, colecciones de artículos, antologías y cualquier otro medio utilizado por él para alcanzar un mayor auditorio.

I understand and accept that the results of evaluation are inappealable. If my article is accepted for publication, I authorize ECORFAN-Bolivia to reproduce it in electronic data bases, reprints, anthologies or any other media in order to reach a wider audience.

Artículo (Article):

\_\_\_\_\_  
Firma (Signature)

\_\_\_\_\_  
Nombre (Name)

# Revista de Energía Química y Física

“Frecuencia de anemia ferropénica en embarazadas que acuden al centro de salud “san roque” en los meses de Septiembre a Octubre. Sucre 2011”

**PEREZ-Mauricio**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

“Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y RH (d), en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010”

**SANDOVAL-Claudia**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

“Identificación de las especies del género Candida en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre – 2011”

**ANDRADE-Maria**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

Identificación de portadores de staphylococcus aureus (nariz y manos) en el personal de salud del hospital universitario “Anton Boel Villadsen”, en la gestión 2008”

**BARRIOS-Blanca & GONZALES-Virginia**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

“Prevalencia de candidiasis bucal en pacientes de la tercera edad que asisten a consulta médica al “hospital Jaime Mendoza” Sucre, Enero - Agosto del 2009”

**ATALAY-Reina & MORALES-Luz**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

“Protocolo de control de calidad de la eficacia antibacteriana de los discos antibióticos para pruebas de susceptibilidad”

**CORDOVA-Mónica & LOAYZA-Rissel**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

“Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de Stevia Rebaudiana contra la cándida Albicans, sucre 2011-2012”

**CHILACA-Gladys & CAVA-Cintia**

*Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca*

ISSN-2410-3934

