

QUIBIOUAS

Revista de Ciencias Químico Biológicas

Enero-Junio 2026 Núm. 5



U N I V E R S I D A D A U T Ó N O M A D E S I N A L O A



ISSN 3122-4229

QUIBIOUAS

Revista de Ciencias Químico Biológicas

Número V, 2026. ISSN 3122-4229

<https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>



DIRECTORIO INSTITUCIONAL

DR. JESÚS MADUEÑA MOLINA

RECTOR

DRA. NIDIA YUNIBA BRUNN CORONA

SECRETARIA GENERAL

DR. VÍCTOR HUGO AGUILAR GAXIOLA

DIRECTOR GENERAL DE SERVICIO SOCIAL

M.C. SERGIO MARIO ARREDONDO SALAS

SECRETARIO ACADÉMICO UNIVERSITARIO

DRA. MARCELA DE JESÚS VERGARA JIMÉNEZ

DIRECTOR GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

DR. EUSIEL RUBIO CASTRO

DIRECTOR DE LA FCQB

DRA. MARTHA EDITH LÓPEZ LÓPEZ

EDITORIA EN JEFE DE LA REVISTA

QUIBIOUAS REVISTA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

COMITÉ EDITORIAL

DRA. MARTHA EDITH LÓPEZ LÓPEZ 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1
Editora en Jefe y Gestora

DR. CARLOS IVÁN DELGADO NIEBLA 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1
Editor de Sección Biotecnología

DRA. MARÍA DE JESÚS NAVARRO ARIAS 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1
Editor de Sección Salud

DR. CRISTIAN ALARID GARCÍA 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1
Editor de Sección Ingeniería

DRA. LIDIA ELENA AYÓN REYNA 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1
Corrector de Estilo Biotecnología

DRA. EVANGELINA GARCÍA ARMENTA 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1
Corrector de Estilo Ingeniería

DRA. MARCELA MARTÍNEZ VALENZUELA 

Profesor Investigador FCQB
Corrector de Estilo Salud

DR. CHRISTIAN HAZAEL PÉREZ BELTRÁN 

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel C
Traductor

LIC. JUAN ANTONIO ZAMORA LÓPEZ

Diseño Gráfico-Maquetador

COMITÉ CIENTÍFICO

DRA. MAYRA ALEJANDRA MÉNDEZ-ENCINAS 

Facultad Interdisciplinaria de Ciencias Biológicas y de Salud
Departamento de Ciencias Químico Biológicas y
Agropecuarias
Universidad de Sonora Campus Caborca

DR. LUIS ANTONIO PÉREZ-GARCÍA 

Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

DR. MILTON VEGA-ÁLVAREZ 

Programa Educativo Licenciatura En Nutrición
Universidad Autónoma de Occidente

DR. JOSÉ GUADALUPE RENDÓN-MALDONADO 

Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Universidad Autónoma de Sinaloa

DRA. ANNETE ITZEL APODACA-MEDINA 

Universidad Autónoma de Occidente

DR. CARLOS BRUNO-FISCAL 

Universidad Autónoma Chapingo

DR. SALVADOR VÁZQUEZ-VEGA 

Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de
Salud
Centro Médico Nacional Siglo XXI
Instituto Mexicano del Seguro Social

DR. DAVID ULISES SANTOS BALLARDO 

Centro de Investigación de Alimentación y Desarrollo (CIAD)
Campus Mazatlán

El Comité Editorial de QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, agradece la colaboración realizada como pares evaluadores doble ciego, a los autores, revisores, así como a los correctores de estilo, editores, maquetador y soporte técnico. Todo el proceso editorial mantuvo siempre la integridad del proceso de evaluación, cuidando la calidad de la revista QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas en su Número 5, enero-junio 2026. El acceso es libre, permitiendo que cualquier persona interesada pueda leer y descargar los artículos sin costo alguno.

CINTILLO LEGAL

QUIBIUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas No. 5, enero-junio 2026, es una publicación semestral, editada por la Universidad Autónoma de Sinaloa, a través de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas Calzada de las Américas Nte 2771, Cd Universitaria, Burócrata, Culiacán Rosales, Sinaloa. CP. 80013, teléfono 6677520460, página de internet <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>, y correo electrónico editor.quibiouas@uas.edu.mx. Editora responsable: Dra. Martha Edith López López, Profesora Investigadora Titular C y SNII Nivel 1. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2025-1204173800-102, ISSN: 3122-4229. Responsable de actualizar la publicación: Dra. Martha Edith López López en enero de 2026. Las opiniones expresadas por los/las/autores/as no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se permite la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación siempre y cuando se cite la fuente original de forma detallada. Cada manuscrito está bajo la licencia Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.

CONTENIDO

Editorial

Carta de la editora en jefe

Dra. Martha Edith López López

AVANCES DE INVESTIGACIÓN

Cuantificación del contenido de ésteres de forbol por HPTLC en semillas de genotipos de *Jatropha*

Quantification of phorbol esters content by HPTLC in seeds of *Jatropha* species genotypes

8-19

Salazar-Villa, E.¹, Medina-Rodelo, D. P.², Rojo-Báez, I.¹, Báez-Parra, K.M.³, Soto-Landeros, F.², Angulo-Escalante, M.A.^{2*}

Causas de diferimiento en candidatos a donación sanguínea: estudio retrospectivo en un hospital de la Huasteca Potosina

Causes of deferral among blood donation candidates: a retrospective study in a hospital of the Huasteca Potosina region

20-29

Díaz-Gaytán, J.J.^{1,2}, Pérez-Flores, G.², Torres-Tirado, D.², Pérez-García, L.A.^{2*}

Detección molecular de *Treponema pallidum* mediante PCR del gen *tpn47* en sangre periférica de voluntarios atendidos en laboratorios clínicos de Culiacán

Molecular detection of *Treponema pallidum* by PCR of the *tpn47* gene in peripheral blood of volunteers treated in clinical laboratories of Culiacan

30-40

Navarro-Arias M.J.¹, Sicaños-Félix J.², Durán-Pérez S.A.¹, Parra-Unda J. R.³, Vázquez-Vega S.⁴ y Rendón-Maldonado J.G.^{1*}

Identificación inmunoquímica de proteínas inmunogénicas de *Porphyromonas Gingivalis*

Immunochemical Identification of Immunogenic Proteins from *Porphyromonas gingivalis*

41-53

Beltrán-López, E.¹, Tiznado-Parra, N.N.¹, Luque-Ortega, F.², Arámbula-Meraz, E.¹, Pineda-Hidalgo, K.³, Vega-Castillo, U.¹, López-Moreno, H.S.^{1*}

Fenotipo de virulencia, multirresistencia y tolerancia a desinfectantes de un aislado clínico de *Pseudomonas fluorescens*

Phenotype of virulence, multidrug resistance, and disinfectant tolerance of a clinical isolate of *Pseudomonas fluorescens*

54-62

Martínez-Valenzuela, M.¹, Clemente-Soto, A.F.¹, Castañeda-Ruelas, G.M.^{2*}

CARTA DEL EDITOR

Estimados Investigadores, Académicos y Profesionales de las Ciencias Químico-Biológicas:

Es un honor dirigirme a ustedes en el marco de la publicación del número 5 de QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas. Este nuevo número representa no solo la continuidad de nuestro compromiso con la divulgación científica de calidad, sino también un momento clave en el crecimiento y consolidación de nuestra revista.

Nos complace compartir que QUIBIOUAS ha obtenido oficialmente su registro ISSN (International Standard Serial Number), un reconocimiento fundamental que fortalece nuestra identidad como publicación científica formal y nos posiciona dentro del sistema internacional de revistas académicas. Este logro implica múltiples beneficios: garantiza la visibilidad y trazabilidad de nuestros artículos, facilita su indexación en bases de datos y repositorios académicos, y brinda mayor confianza y respaldo a los autores que eligen nuestra revista como medio de difusión de sus investigaciones.

Contar con ISSN no solo valida el trabajo editorial realizado hasta ahora, sino que también abre nuevas oportunidades para incrementar el impacto y alcance de los trabajos publicados. Asimismo, representa un paso decisivo hacia la consolidación de estándares de calidad editorial y científica que benefician a toda nuestra comunidad académica. En este contexto, extendemos una cordial invitación a investigadores, docentes y estudiantes de posgrado a someter sus manuscritos y formar parte de este proyecto editorial en crecimiento. QUIBIOUAS es un espacio abierto para la difusión del conocimiento en áreas como la Química, Biotecnología, Ciencias de los Alimentos, Salud y Disciplinas Afines.

Aprovechar esta nueva etapa de la revista es también una oportunidad para que sus investigaciones alcancen mayor visibilidad, reconocimiento y proyección internacional. Agradecemos profundamente la confianza de nuestros autores, revisores y lectores, quienes han hecho posible este avance. Los invitamos a seguir colaborando con nosotros y a ser parte activa del fortalecimiento de la ciencia.

Atentamente,
Dra. Martha Edith López López
Editora en Jefe

Cuantificación del contenido de ésteres de forbol por HPTLC en semillas de genotipos de *Jatropha*

Quantification of phorbol esters content by HPTLC in seeds of *Jatropha* species genotypes

Salazar-Villa, E.¹, Medina-Rodelo, D. P.², Rojo-Báez, I.¹, Báez-Parra, K.M.³, Soto-Landeros, F.², Angulo-Escalante, M.A.^{2*}

¹Facultad de Biología. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calzada de las Américas y Universitarios, Ciudad Universitaria; C.P. 80040, Culiacán, Sinaloa, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Culiacán. Carretera a Eldorado Km 5.5. Campo El Diez: C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, México.

³Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calzada de las Américas y Universitarios, Ciudad Universitaria; C.P. 80040, Culiacán, Sinaloa, México.

RESUMEN

La *Jatropha* pertenece a la familia Euphorbiaceae e incluye especies de interés como *Jatropha curcas*, *J. platyphylla* y *J. cinerea*, cuyas semillas presentan potencial para la producción de biocombustibles por su valioso contenido de aceite (50-60 %) y para la elaboración de alimentos balanceados por su alto contenido de proteína cruda (25-30 %). Sin embargo, las semillas de *Jatropha* contienen compuestos antinutricionales y tóxicos tales como ésteres de forbol, comúnmente conocidos como promotores de cáncer, lo que limita su aprovechamiento industrial y alimentario si no se identifican adecuadamente, ya que su ausencia o presencia determina la necesidad de procesos de detoxificación previos a su uso. El objetivo de este estudio fue desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación de ésteres de forbol (PE) mediante cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) en semillas de *Jatropha* de diferentes regiones de Sinaloa. Los resultados mostraron que *Jatropha curcas*-Capule, *J. curcas*-Imala y *J. cinerea*-La Campana presentaron concentraciones de 1.78 mg/g, 0.96 mg/g y 0.17 mg/g de ésteres de forbol, respectivamente. En contraste, en *J. curcas*-La Campana, *J. platyphylla*-La Campana y *J. platyphylla*-Mocorito no se detectaron niveles de estos compuestos. Estos hallazgos evidencian variaciones importantes en el contenido de ésteres de forbol entre genotipos, lo cual es relevante para su posible aprovechamiento y manejo.

Palabras clave: Cromatografía, Germen, HPTLC, *Jatropha*.

ABSTRACT

Jatropha belongs to the Euphorbiaceae family and includes species of interest such as *Jatropha curcas*, *J. platyphylla*, and *J. cinerea*, whose seeds have potential for biofuel production due to their valuable oil content (50-60 %) and to produce animal feed due to their high crude protein content (25-30 %). However, *Jatropha* seeds contain antinutritional and toxic compounds such as phorbol esters, commonly known as cancer promoters, which limits their industrial and food use if they are not properly identified, since their absence or presence determines the need for detoxification processes prior to use. The objective of this study was to develop and validate an analytical method for the quantification of phorbol esters (PE) using high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) in *Jatropha* seeds from different regions of Sinaloa. The results showed that *Jatropha curcas*-Capule, *J. curcas*-Imala, and *J. cinerea*-La Campana presented concentrations of 1.78 mg/g, 0.96 mg/g, and 0.17 mg/g of phorbol esters, respectively. In contrast, in *J. curcas*-La Campana, *J. platyphylla*-La Campana, and *J. platyphylla*-Mocorito, no levels of these compounds were detected. These findings show significant variations in phorbol ester content among genotypes, which is relevant for their potential use and management.

Keywords: Chromatography, Kernel, HPTLC, *Jatropha*.

INTRODUCCIÓN

La familia Euphorbiaceae, conocida como una de las más diversas del reino vegetal, se distribuye por todo el mundo, excepto en las zonas polares, sin embargo, se representa más en regiones tropicales y subtropicales (Cavalcante et al., 2020). De las 186 especies de *Jatropha* que existen en todo el mundo, aproximadamente el 21 % de las especies son endémicas de México, lo que sugiere que México es un centro de diversidad y endemismo para este grupo de plantas, caracterizadas por su rápido crecimiento y fácil propagación (Govaerts et al., 2012). Además, las semillas de *Jatropha*, especialmente *J. curcas*, *J. platyphylla* y *J. cinerea*, tienen un contenido de aceite alto, lo que ha permitido que estas especies sean consideradas con potencial industrial para la producción de biodiésel (Sosa-Segura et al., 2014). Por su parte, *Jatropha curcas* L. es comúnmente conocido como "piñoncillo" y debido a su notable adaptabilidad a condiciones edafoclimáticas adversas, incluyendo suelos degradados y periodos prolongados de estrés hídrico, ha generado interés biotecnológico (Jaspal et al., 2023). En México, se han identificado variedades tóxicas y no tóxicas, en contraste con regiones de África y Asia, donde predominantemente se han reportado variedades tóxicas (Leyva-Padrón et al., 2020). Tanto las especies tóxicas como las no tóxicas de *Jatropha* presentan potencial para la producción de biocombustibles, alimentos y piensos (Makkar et al., 2011; Edrisi et al., 2015); sin embargo, en el caso de las variedades tóxicas, es necesario aplicar tratamientos adicionales para la eliminación o reducción de compuestos tóxicos, como los ésteres de forbol, a fin de garantizar su uso seguro (de Barros et al., 2024). Asimismo, estas variedades tóxicas han demostrado potencial como molusquicidas e insecticidas (Devappa et al., 2012a; Roach et al., 2012). En particular, *J. platyphylla* es una especie silvestre menos conocida, es endémica de México y se distribuye por la costa del Pacífico desde Sinaloa hasta Michoacán (Salazar-Villa et al., 2020). Esta especie tiene potencial para la producción de biocombustibles y alimentos debido a su alto contenido de aceite en la semilla (60.3 %) y proteína cruda en la harina (27.1 %), además de ser una fuente de compuestos bioactivos para el control de enfermedades fúngicas (Sosa-Segura et al., 2014; Leyva-Acuña et al., 2023). Finalmente, *J. cinerea* es una especie distribuida en poblaciones silvestres del noroeste de México y se caracteriza por su resistencia a largos periodos de sequía y su desarrollo en suelos salinos. Además, tiene usos medicinales e industriales y se considera una materia prima no convencional con potencial para producir biodiésel (Vega-Ruiz et al., 2021). La relevancia de estas especies radica en su perfil químico, las semillas de *Jatropha* destacan por su composición lipídica rica en ácidos grasos, monoinsaturados como el oleico (24 % al 45

%) y poliinsaturados como el linoleico (27 % al 34 %), ideales para la producción de biodiésel de alta calidad (Duque & López, 2022; Halim et al., 2022). De igual manera, la harina desgrasada posee un alto contenido de proteína cruda (61.8 %) con un balance de aminoácidos competitivo frente a fuentes convencionales como la soya y la quinoa (Olloqui et al., 2022; Ramadan-Hassanien, 2023). Sin embargo, una limitación importante en la aceptación de *Jatropha* como fuente de biodiésel es la presencia de ésteres de forbol, los cuales son tóxicos y potencialmente cancerígenos cuando son consumidos por humanos y animales, lo que además impide el uso directo del aceite y de la torta residual en la formulación de alimentos para aves, ganado y peces (Pelletier et al., 2015). No obstante, estos compuestos también presentan interés desde el punto de vista de su posible aprovechamiento como agentes bioactivos, particularmente insecticidas, por lo que su cuantificación precisa es necesaria tanto para la evaluación de riesgos como para la valorización del recurso.

Los ésteres de forbol son promotores de tumores y pueden causar una variedad de efectos biológicos negativos a bajas concentraciones (Wakandigara et al., 2020). En este contexto, la determinación de su contenido es fundamental, ya que permite establecer la seguridad del material vegetal, así como su potencial de uso industrial y la necesidad de procesos de detoxificación cuando sea necesario. Sin embargo, los métodos analíticos disponibles para su cuantificación, aunque efectivos, pueden presentar limitaciones en términos de accesibilidad, costo o tiempo de análisis, lo que justifica el desarrollo de metodologías alternativas.

Considerando lo anterior, esta investigación tuvo como objetivo desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación de ésteres de forbol (PE) mediante cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) en semillas de los genotipos de *J. curcas*, *J. platyphylla* y *J. cinerea*.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Las semillas utilizadas en este estudio se obtuvieron de diferentes especies del género *Jatropha* establecidas en un campo experimental localizado en La Campana, Sinaloa, México, con coordenadas geográficas (N 25 ° 30'; W 108 ° 22'). En total, se evaluaron tres genotipos de *Jatropha curcas*: JCC-T (tóxico) y JCC-NT (no tóxico), ambos originarios de El Capule, Culiacán, así como JCI proveniente de Imala, Culiacán. Asimismo, se analizó un genotipo de *Jatropha cinerea* (JCL) de La Campana, Culiacán, y dos genotipos de *Jatropha platyphylla*: JPLC, originario de La Campana, y JPP, procedente de

Pericos, Mocoquito. Las muestras fueron codificadas utilizando una nomenclatura compuesta por la abreviatura de la especie seguida de la localidad de colecta.

Las semillas fueron recolectadas durante el periodo de fructificación, comprendido entre agosto y septiembre de 2021, a partir de individuos previamente seleccionados con base en criterios de sanidad y vigor. Se eligieron plantas bien ramificadas, con adecuado desarrollo vegetativo y sin síntomas visibles de enfermedades o daño por plagas, con el fin de garantizar la calidad y representatividad del material vegetal empleado en el estudio. Posteriormente, las semillas se almacenaron en condiciones secas y a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE ÉSTERES DE FORBOL (PE)

Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Biorecursos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.). Las semillas de genotipos de especies de *Jatropha* se descascararon y molieron en una licuadora para obtener una harina homogénea, por separado. Para la extracción se pesaron 2 g de cada muestra y se mezclaron con 15 mL de metanol grado HPLC (SIGMA-Aldrich, Misuri, E.U.A., 99.9 % de pureza) en tubos cónicos de centrifuga de 50 mL. Las muestras se sometieron a sonicación en baño ultrasónico (Modelo Branson 2800) durante 30 min a 10 °C. Posteriormente, se centrifugaron a 12,000 rpm a 4 °C durante 10 min.

El sobrenadante metanólico (capa superior) se recuperó en un matraz limpio. El residuo se sometió a dos extracciones adicionales bajo las mismas condiciones y los sobrenadantes obtenidos se combinaron para cada muestra.

Los extractos metanólicos combinados de cada muestra se concentraron en un evaporador rotatorio a 337 mbar y 70 rpm y el extracto concentrado se reconstituyó con 2 mL de metanol, se agitó en un vórtex (Genie 2 Fisher) y se filtró a través de una membrana de 0.45 µm y se almacenó a -18 °C en un vial ámbar para análisis cromatográficos posteriores (Devappa et al., 2012a; Jonas et al., 2022).

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

Con un aplicador semiautomático (Limonat 5, CAMAG, Muttentz, Suiza), se aplicaron 10 µL de cada muestra en forma de bandas cromatográficas de 8 mm de longitud sobre placas de aluminio de 20 x 10 cm recubiertas con gel de sílice TLC 60 F254. Las placas se desarrollaron en una cámara

cromatográfica (CAMAG, Muttentz, Suiza) previamente saturada durante 10 min con una fase móvil de acetona-éter de petróleo 4:6 (v/v) (SIGMA-Aldrich Misuri, E.U.A., 99.9 % de pureza). Una vez alcanzado el frente del disolvente (80 mm), se permitió que la placa desarrollada se secara con aire frío durante 5 min. Las placas se escanearon en una cámara de luz ultravioleta (UV) (Cabinet 4, CAMAG, Muttentz, Suiza) a 254 y 366 nm. Posteriormente, se realizó un escaneo densitométrico utilizando un escáner (TLC Scanner 4, CAMAG, Muttentz, Suiza). El factor de retención (R_f) se calculó como la relación entre la distancia recorrida por cada banda cromatográfica y la distancia recorrida por el frente del solvente en la placa. Los datos espectrales UV de todos los picos se acumularon en el rango de 200-400 nm y los cromatogramas se registraron a 280 nm con la ayuda del software visionCATS, versión 2.4 (CAMAG, Muttentz, Suiza).

PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

La validación del método se realizó con base a los parámetros de especificidad, linealidad, precisión, límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ), de acuerdo con ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) (ICH, 2005; Patel et al., 2010).

La linealidad se evaluó mediante curvas de calibración construidas con cinco concentraciones diferentes de PMA (Forbol 12-miristato-13-acetato, pureza ≥ 98 %), por duplicado en cuatro corridas independientes. La especificidad se verificó utilizando datos de espectros UV, confirmando la ausencia de interferencias en el tiempo de retención del analito.

El LOD y LOQ se calcularon en función de la desviación estándar (DE) de la respuesta y la pendiente (S) de las curvas de calibración según las fórmulas ($LOD = 3.3 (DE/S)$ y $LOQ = 10 (DE/S)$).

La precisión del método se evaluó en función del cálculo de la desviación estándar relativa (% RSD) calculada como la relación entre la desviación estándar y la media de las mediciones, multiplicada por 100. La repetibilidad (precisión intra-día) se determinó analizando múltiples réplicas de la misma muestra bajo las mismas condiciones experimentales y de reproducibilidad (precisión inter-día) se evaluó utilizando el análisis de las muestras en diferentes días.

La recuperación del método se evaluó mediante el análisis de muestras fortificadas con concentraciones conocidas del estándar PMA, las cuales

fueron sometidas al mismo procedimiento de extracción y análisis descrito para las muestras. La recuperación (%) se calculó como la relación entre la cantidad de analito recuperado después del proceso de extracción y la cantidad teóricamente añadida, multiplicada por 100.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados del contenido de ésteres de forbol en los genotipos de especies de *Jatropha* se expresaron como media $\pm$ desviación estándar. El análisis estadístico se realizó utilizando el software Minitab versión 18.0. Se aplicó un ANOVA de una vía y, cuando se detectaron diferencias entre las medias, se realizó una prueba post hoc de Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$. La linealidad del método HPTLC se evaluó mediante análisis de regresión lineal. A partir de este análisis se obtuvo la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación (R^2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE ÉSTERES DE FORBOL

Los germoplasmas de *Jatropha* pueden clasificarse en tóxicos y no tóxicos, lo cual está asociado con la presencia o ausencia de compuestos como los ésteres de forbol. Debido a que estos metabolitos están relacionados con efectos tóxicos, resulta fundamental desarrollar técnicas confiables para su detección y cuantificación. Esto permite prevenir posibles intoxicaciones y garantizar que el aprovechamiento de la pasta y el aceite de *Jatropha* en las industrias energética y alimentaria se realice de manera segura. La cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) es una herramienta analítica potente y altamente específica para identificar componentes individuales presentes en extractos de plantas (Demissie & Lele, 2010). Existen estudios donde se utiliza esta técnica para la detección de metabolitos terpenoides, un grupo al que pertenecen los ésteres de forbol (Yamunadevi et al., 2011).

Los análisis por HPTLC revelaron tres bandas cromatográficas con valores de R_f de 0.43, 0.46 y 0.50 en JCL (Figura 1). Estos valores muestran coincidencia con los rangos de migración reportados para ésteres de forbol en *Jatropha*, previamente identificados mediante HPLC en estudios anteriores (Beutler et al., 1989; Soto-León et al., 2014), lo que sugiere la posible presencia de estos metabolitos en esta especie. JCC-T y JCI muestran cuatro bandas cromatográficas que representan componentes de ésteres de forbol, respectivamente (Tabla 1)(Figuras 2 y 3). Para JCC-NT,

JPP y JPLC no se detectaron bandas cromatográficas. Los cromatogramas obtenidos para las muestras positivas (JCL, JCC-T y JCI) mostraron señales con valores de R_f comprendidos entre 0.30 y 0.50, intervalo comparable con el reportado por Demissie & Lele (2010), quienes identificaron ésteres de forbol en *Jatropha curcas* de India con valores de R_f entre 0.36 y 0.50.

El análisis densitométrico permitió obtener picos cromatográficos correspondientes a los componentes presentes en las bandas cromatográficas. En la muestra JCL se observaron tres picos principales, mientras que en JCC-T se registró una mayor intensidad relativa en los picos 1 y 4, y en JCI predominó un pico de mayor área correspondiente al primer pico detectado en el intervalo analizado.

Estos perfiles pueden asociarse con algunos de los factores de ésteres de forbol (C1-C7) descritos previamente para especies del género *Jatropha*, los cuales corresponden a variantes estructurales con diferente comportamiento cromatográfico. En particular, estos factores representan mezclas de ésteres de forbol con variaciones en su cadena lateral y grado de ciclación, lo que les confiere diferencias en su movilidad en sistemas cromatográficos (Francis et al., 2021). En este sentido, Liu et al. (1997) reportaron la presencia de estos factores en semillas de *J. curcas* de diferentes procedencias y señalaron que las variaciones en su composición pueden emplearse como indicadores químicos para la caracterización de germoplasmas y el posible origen geográfico de las semillas. El factor C1-C5 de *Jatropha* contiene una unidad de ciclohexano bíciclica, y el factor C6-C7 de *Jatropha* contiene una unidad de ciclobuteno, la cual se encontró por primera vez dentro de esta clase de compuestos (Fujiki et al., 2017).

En el presente estudio, las muestras analizadas mostraron perfiles cromatográficos diferenciados dentro de este intervalo de R_f . En JCL se observaron tres picos principales en la región de R_f 0.43–0.50, mientras que en JCC-T se registró una mayor intensidad relativa en los picos ubicados aproximadamente en R_f 0.43 y 0.52, y en JCI predominó un pico principal cercano a R_f 0.43. La coincidencia de estos valores con los rangos reportados en la literatura sugiere la posible presencia de algunos de los factores de ésteres de forbol previamente descritos para especies de *Jatropha*. El uso de técnicas, como HPTLC con espectrometría de masas, permitiría determinar el contenido de estos factores. Si bien técnicas analíticas complementarias, como la espectrometría de masas, permitirían

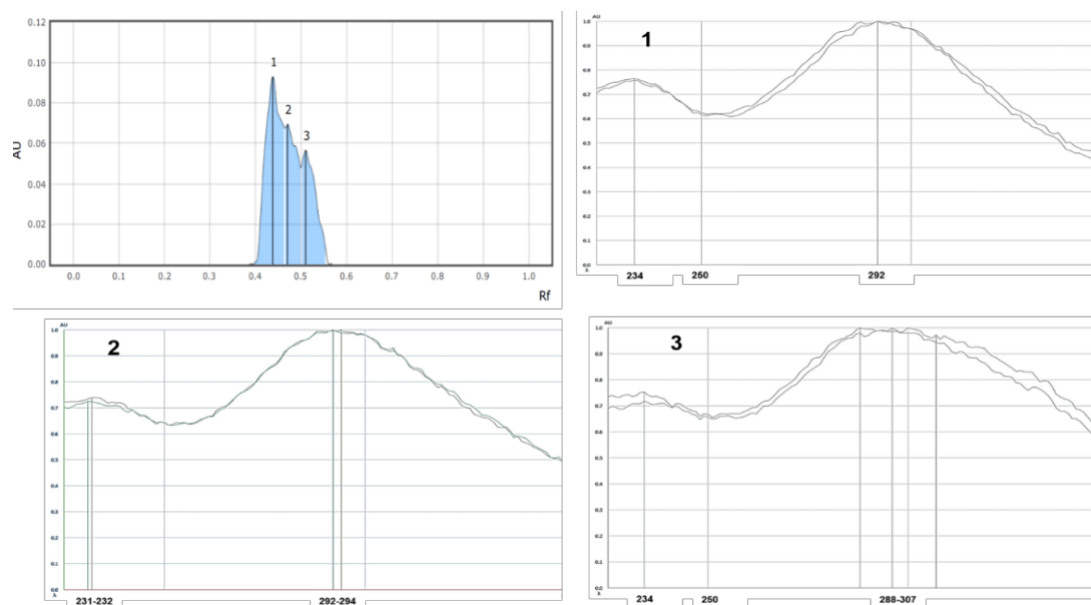


Figura 1. Cromatograma de ésteres de forbol (PE) del germen de la semilla de JCL y espectros ultravioleta (UV) de los principales picos de PE. 1. Pico 1; 2. Pico 2 y 3. Pico 3.

Tabla 1. Rf promedio de los componentes de los ésteres de forbol (PE) y correlación de los espectros de absorción.

Muestra	PE	Rf promedio $\pm$ SD	Correlación
J. cinerea (JCL)	Pico 1	0.4385 $\pm$ 0.007	0.99038
	Pico 2	0.4695 $\pm$ 0.003	0.976028
	Pico 3	0.5015 $\pm$ 0.01	0.967538
J. curcas Capule (JCC-T)	Pico 1	0.4375 $\pm$ 0.002	0.994629
	Pico 2	0.465 $\pm$ 0.004	0.999057
	Pico 3	0.4885 $\pm$ 0.002	0.995322
	Pico 4	0.5195 $\pm$ 0.001	0.992676
J. curcas Imala (JCI)	Pico 1	0.363 $\pm$ 0.002	0.99315
	Pico 2	0.386 $\pm$ 0.005	0.997804
	Pico 3	0.4 $\pm$ 0.007	0.966096
	Pico 4	0.43 $\pm$ 0.002	0.95253

confirmar la identidad estructural de cada uno de los factores individuales de ésteres de forbol, el presente estudio se centra en el desarrollo y validación de un método HPTLC para la determinación de ésteres de forbol totales en semillas de diferentes genotipos de *Jatropha*.

Los espectros de absorción pueden proporcionar información útil relacionada con la fragmentación de componentes individuales, lo que puede utilizarse para buscar nuevos metabolitos con características estructurales similares. Este análisis puede ser particularmente útil para determinar la presencia de componentes relacionados en materiales

vegetales e investigar la degradación fitoquímica, el metabolismo y la biosíntesis cuantitativa y cualitativa (Liu et al., 1997; Roque et al., 2017).

Tabla 2. Comparación de los espectros de absorción entre ésteres de forbol (PE) Picos. VS = Contra.

PE	Muestra	Correlación
Pico 1	JCL VS JCC-T	0.964
	JCL VS JCI	0.986519
	JCC-T VS JCI	0.971032
Pico 2	JCL VS JCC-T	0.970778
	JCL VS JCI	0.970966
	JCC-T VS JCI	0.965501
Pico 3	JCL VS JCC-T	0.983728
	JCL VS JCI	0.956347
	JCC-T VS JCI	0.975087
Pico 4	JCC-T VS JCI	0.992662

En JCL, los espectros de absorción del pico 1 fueron 234, 250 y 292 nm; del pico 2 fueron 231-232 y 292-294 nm; y del pico 3 fueron 234, 250, 288-307 nm (Figura 1). La comparación de los espectros de absorción es útil para evitar la interpretación errónea de picos no PE, que se muestran en el mismo Rf. Estos picos pueden aparecer debido a la descomposición de los PE o a la interferencia de moléculas lipídicas complejas presentes en la matriz (Devappa et al., 2012a).

En JCC-T, los espectros de absorción del pico 1 fueron 234, 250 y 287-288 nm; del pico 2 fueron 231-234 y 287-288 nm; mientras que del pico 3 fueron 232-234 y 288 nm. El pico 4 tuvo sus valores máximos de espectro de absorción en 232-233, 288 y 314 nm (Figura 2). En JCI, los espectros de absorción del pico 1 fueron 234, 250 y 292 nm; para el pico 2 fueron 231-232 y 292-294 nm; los máximos de absorción del espectro del pico 3 fueron 234, 250 y 288-307 nm. Los espectros de absorción del pico 4 fueron 232, 250 y 283-288 nm (Figura 3).

Dado que las concentraciones de PE detectadas en las muestras se informan como equivalentes al estándar de PMA, el análisis de los espectros de absorción es importante para identificar los componentes. Anteriormente, se han reportado los espectros de absorción para los factores C1-C5, cuya intensidad de señal oscila alrededor de 280 nm, mientras que para el factor C6 la máxima absorción es de 304 nm (Kongmany et al., 2016).

En el presente estudio, los espectros de absorción asociados a los picos cromatográficos observados en las Figuras 1-3 muestran máximos predominantes en el intervalo de 280-292 nm en las muestras JCL, JCC-T y JCI. Este comportamiento es consistente con el rango reportado para los factores C1-C5, lo que sugiere que los compuestos detectados corresponden principalmente a este tipo de ésteres de forbol. Asimismo, no se observaron señales con máximos cercanos a 304 nm, lo cual indicaría la ausencia o baja contribución de compuestos asociados al factor C6 bajo las condiciones analíticas empleadas.

El contraste de los picos de los espectros de absorción obtenidos para PE mostró altas correlaciones entre ellos (Tabla 2). Los picos 1 y 2 mostraron un $R^2 > 0.96$; el pico 3 un $R^2 > 0.95$ y el pico 4 un $R^2 > 0.99$. Esta alta correlación espectral indica una elevada similitud en los perfiles de absorción UV entre los diferentes picos detectados, lo cual sugiere que corresponden a compuestos estructuralmente relacionados dentro del mismo grupo de ésteres de forbol.

Tabla 3. Concentración de ésteres de forbol (PE)(mg/g) en el germen de Jatropha.

Genotipos de especies de Jatropha	PE mg/g±SD
JCC-T	1.78±0.1a
JCI	0.96±0.11b
JCL	0.17±0.3bc
JCC-NT	ND
JPLC	ND
JPP	ND

JCC-T = J. curcas Capule (tóxico), JCI = J. curcas Imala, JCL = J. cinerea La Campana, JCC-NT = J. curcas Capule (no tóxico), JPLC = J. platyphylla La Campana, JPP = J. platyphylla Pericos. Letras diferentes entre filas indican diferencia estadística $p < 0.05$. ND: No detectado

VALIDACIÓN DEL MÉTODO HPTLC

La tabla 3 presenta el contenido de PE determinado en semillas de tres especies de Jatropha provenientes de diferentes localidades. Se observaron diferencias en las concentraciones de PE entre los genotipos analizados. El mayor contenido se registró en JCC-T (1.78 ± 0.10 mg/g), seguido de JCI (0.96 ± 0.11 mg/g), mientras que JCL presentó una

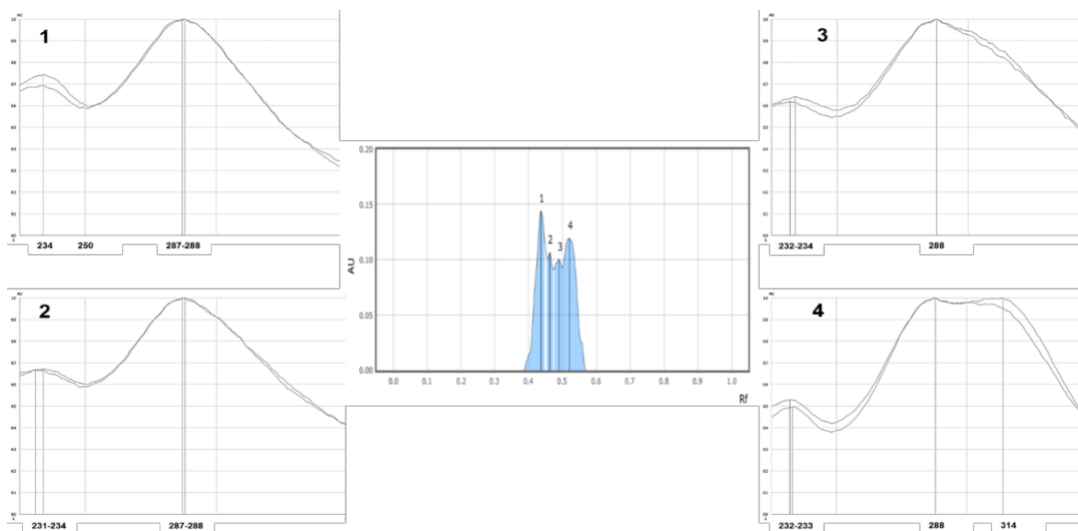


Figura 2. Cromatograma de ésteres de forbol (PE) del germen de la semilla de JCC-T y espectros ultravioleta (UV) de los principales picos de PE. 1. Pico 1; 2. Pico 2; 3. Pico 3 y 4. Pico 4.

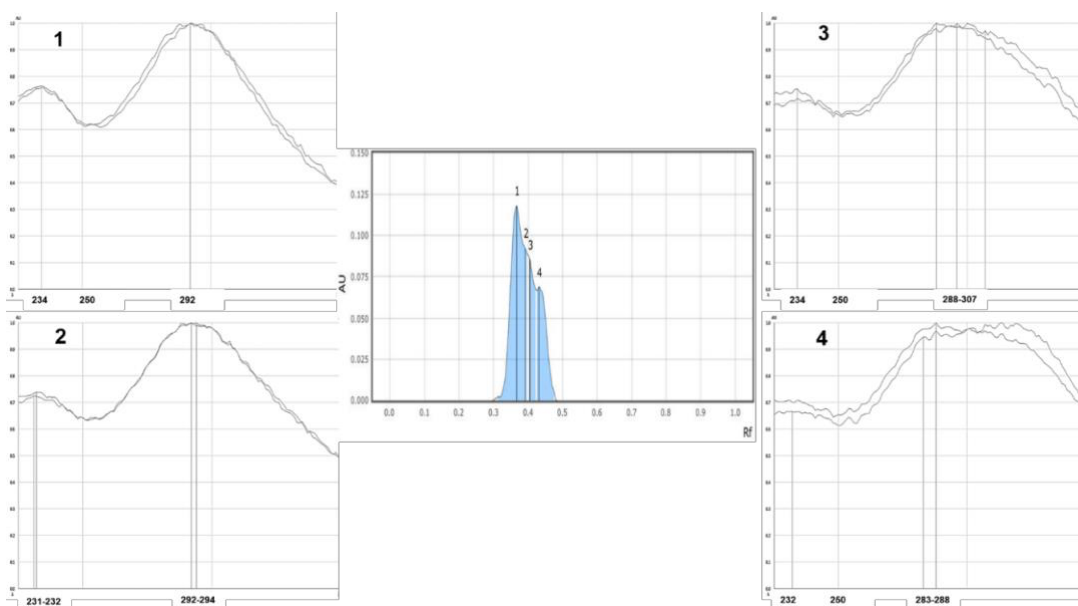


Figura 3. Cromatograma de ésteres de forbol (PE) del germen de semilla de JCI y espectros ultravioleta (UV) de los principales picos de PE. 1. Pico 1; 2. Pico 2; 3. Pico 3 y 4. Pico 4.

concentración considerablemente menor (0.17 ± 0.30 mg/g). El análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos ($p < 0.05$). Según Makkar & Becker (2009), un rango de 0.86 a 1.48 mg/g de PE se considera una especie tóxica. Por lo tanto, JCC-T y JCI podrían considerarse materiales tóxicos. JCL puede definirse como una

especie de *Jatropha* no tóxica debido a su bajo contenido de PE, coincidiendo con lo que se informó previamente (Soto-León et al., 2014). Estos resultados evidencian la variabilidad en el contenido de ésteres de forbol entre las especies evaluadas. Estudios previos han reportado concentraciones variables de PE en semillas de *J. curcas* provenientes de

diferentes regiones geográficas, lo que sugiere que factores genéticos y ambientales influyen en la acumulación de estos compuestos. No obstante, la información disponible sobre el contenido de PE en otras especies del género, como *J. cinerea* y *J. platyphylla*, es limitada. En este sentido, los resultados obtenidos en el presente trabajo contribuyen a ampliar el conocimiento sobre la variabilidad del contenido de ésteres de forbol en distintas especies de *Jatropha*.

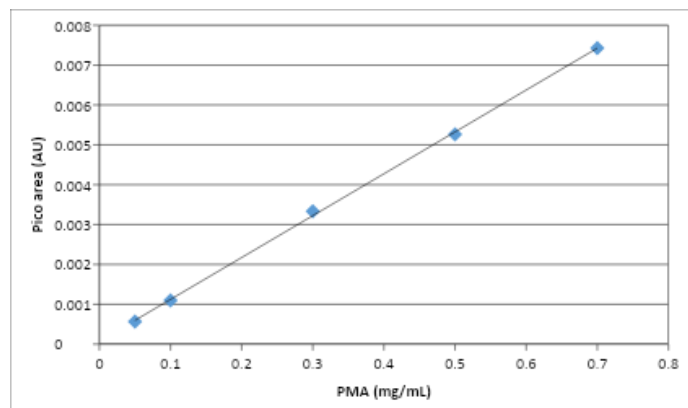


Figura 4. Curva de calibración de 12-miristato-13-acetato de forbol (PMA) y su respectiva distribución de residuos.

En *J. curcas*, el contenido de PE reportado en la literatura muestra una amplia variabilidad dependiendo del origen geográfico y del genotipo. Se han registrado concentraciones de 1 a 3 mg/g en semillas y de 3 a 6 mg/g en aceite (Devappa et al., 2012a), mientras que otros estudios reportan valores entre 0.206 y 3.406 mg/g en diferentes regiones del mundo (Liu et al., 1997). En contraste, algunas variedades mexicanas consideradas no tóxicas presentan contenidos significativamente menores, generalmente inferiores a 0.3 mg/g, mientras que genotipos de otras regiones, como Brasil, pueden alcanzar valores cercanos a 3 mg/g (Makkar et al., 1998; Oskoueian et al., 2011; Chún & Roldan, 2013).

Se ha encontrado que el PE es tóxico para una amplia variedad de animales, incluidos ratones, ratas, cabras, ovejas, terneros, pollos, cerdos, peces y especies acuáticas más pequeñas, incluidos los caracoles (Makkar & Becker, 1997; Makkar & Becker, 2009; Devappa et al., 2012a). En consecuencia, la identificación de materiales tóxicos o aquellos con trazas de PE es esencial en los programas de mejoramiento genético para identificar genotipos con menor contenido de estos metabolitos, con el

propósito de la extracción de aceite en alimentación animal (Vischi et al., 2013; Liu et al., 1997).

De manera complementaria, la identificación de genotipos con contenidos altos de ésteres de forbol también resulta relevante debido a su potencial aplicación en el desarrollo de agentes biológicos con actividad insecticida y otras aplicaciones biotecnológicas o medicinales, aprovechando su reconocida actividad biológica sobre diversos organismos (Devappa et al., 2012a; Roach et al., 2012).

La validación del método HPTLC mostró un desempeño adecuado para la determinación de PE en semillas de *Jatropha*. La relación entre la concentración del estándar forbol 12-miristato-13-acetato (PMA) y el área de los picos cromatográficos presentó un comportamiento lineal en el intervalo de 0.05-0.7 mg/mL, obteniéndose una ecuación de regresión $y = 0.0105x + 0.00007$ con un coeficiente de determinación ($R^2 = 0.997$), lo que indica una respuesta analítica proporcional dentro del rango evaluado. La curva de regresión de las áreas de los picos frente a las concentraciones de PMA fue lineal con un coeficiente de determinación (R^2) > 0.99 y el rango de linealidad fue de 0.05-0.7 mg/mL (Figura 4) (Faria-Machado et al., 2019).

La precisión del método, expresada como desviación estándar relativa (%RSD), mostró valores intra-día entre 3.49 % y 17.45 %, mientras que el % RSD inter-día fue de 3.44 %, lo que refleja una adecuada reproducibilidad del método. Los valores más altos de % RSD se observaron en las concentraciones más bajas del estándar, lo cual es consistente con la mayor variabilidad analítica que suele presentarse cerca del límite de detección en métodos cromatográficos. De acuerdo con criterios comúnmente aceptados para la validación de métodos analíticos, valores de %RSD inferiores al 20 % pueden considerarse aceptables cuando se analizan concentraciones bajas del analito, mientras que valores menores al 10 % indican una precisión alta del método (Patel et al., 2010; Shrivastava & Gupta, 2011).

La calidad de un método analítico se evalúa en términos de su idoneidad para el propósito, considerando aspectos como recuperación, sensibilidad, estabilidad del analito y facilidad de análisis. En este contexto, el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) constituyen parámetros importantes en la validación de métodos analíticos, ya que describen la concentración mínima de un analito que puede detectarse o cuantificarse de manera confiable mediante un procedimiento analítico (Devappa et al., 2012b). En este estudio se obtuvieron valores de LOD de 0.0261 mg y LOQ de

0.087 mg, lo que indica una sensibilidad adecuada del método para la detección de PE.

En estudios previos realizados con muestras de *J. curcas*, se han reportado valores de LOD y LOQ de 0.0051 y 0.0171 mg/mL, respectivamente, empleando técnicas como espectroscopia UV e infrarroja (Liu et al., 1997). En este sentido, los límites obtenidos permiten la detección de concentraciones compatibles con los niveles reportados en semillas tóxicas y no tóxicas de *Jatropha*, considerando que concentraciones superiores a 0.86 mg/g se asocian con materiales tóxicos, mientras que contenidos entre 0.11 y 0.27 mg/g corresponden a genotipos no tóxicos reportados en la literatura (Li et al., 2010; Devappa et al., 2012a). Por lo tanto, el método presenta una sensibilidad suficiente para discriminar entre genotipos con potencial toxicológico y no tóxico dentro del rango de interés biológico.

La recuperación de PE mediante HPTLC osciló entre 41.42 % y 64.8 %. Valores comparables han sido reportados en muestras fortificadas analizadas mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), donde se observaron recuperaciones entre 51 % y 69 % (Baldini et al., 2014). Otros estudios han reportado recuperaciones cercanas al 98.5 % mediante extracción con metanol seguida de análisis por HPLC-UV (Neu et al., 2018). La recuperación se considera un indicador de la exactitud del método, ya que evalúa la proximidad entre el valor medido y el valor real del analito (ICH, 2005). De acuerdo con criterios internacionales, recuperaciones entre 70 % y 120 % $\pm$ 20 % suelen considerarse aceptables para métodos analíticos, aunque valores menores pueden ser admisibles cuando se trata de concentraciones muy bajas del analito y el método demuestra una precisión adecuada (Patel et al., 2010; Shrivastava & Gupta, 2011; Nishshanka et al., 2016; Codex Alimentarius Commission, 2017). Por otra parte, los métodos HPTLC previamente desarrollados para la determinación de compuestos fenólicos en especies del género *Jatropha* han demostrado ser reproducibles y selectivos para el análisis de metabolitos en extractos vegetales (Dwivedi et al., 2020). En conjunto, estos resultados indican que el método HPTLC desarrollado presenta sensibilidad y reproducibilidad adecuadas para la determinación de ésteres de forbol en semillas de diferentes especies de *Jatropha*.

CONCLUSIONES

Se confirmó la presencia de ésteres de forbol en concentraciones de 0.17 mg/g a 1.78 mg/g en el germen de algunas especies de *Jatropha* analizadas,

Jatropha curcas y *Jatropha cinérea*, utilizando la técnica HPTLC; la cual demostró ser capaz de cuantificarlos. Esta técnica podría considerarse como control de calidad para la selección de semillas y así poder obtener aceite vegetal y pasta rica en proteínas libres de ésteres de forbol.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Saúl León-Niebla, Alexander Casian-Plaza, Briceida Pérez, Verónica Pérez, Eduardo Sánchez y Werner Rubio por la asistencia técnica.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Declaramos que no tenemos conflictos de interés.

REFERENCIAS

- Baldini, C., Ferfua, R., Bortolomeazzi, G., Verardo, V., Pascali, E., Piasentier, L., & Franceschi, L. (2014). Determination of phorbol esters in seeds and leaves of *Jatropha curcas* and in animal tissue by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Industrial Crops and Products*, 59, 268–276. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.023>
- Beutler, J., Alvarado, A., McCloud, T., & Cragg, G. (1989). Distribution of phorbol ester bioactivity in the *Euphorbiaceae*. *Phytotherapy Research*, 3(5), 188–192. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650030507>
- Cavalcante, N. B., da Conceição Santos, A. D., & da Silva Almeida, J. R. G. (2020). The genus *Jatropha* (*Euphorbiaceae*): A review on secondary chemical metabolites and biological aspects. *Chemico-Biological Interactions*, 318, 108976. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108976>
- Chún, D., & Roldan, D. (2013). Cuantificación de ésteres de forbol en partes estructurales de semilla descascarada en ocho accesiones de *Jatropha curcas* [Tesis de licenciatura]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Codex Alimentarius Commission. (2017). Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed (CXG 90-2017).
- de Barros, C. R., Ferreira, L. M. M., Fraga, I., Mourão, J. L., & Rodrigues, M. A. M. (2024). Detoxification methods of *Jatropha curcas* seed cake

- and its potential utilization as animal feed. *Fermentation*, 10(5), 256. <https://doi.org/10.3390/fermentation10050256>
- Demissie, A., & Lele, S. (2010). Bioassay-assisted identification of phorbol ester from *Jatropha curcas* tissue culture. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(3), 1-7. <http://www.ijpbs.net/issue-3/6.pdf>
- Devappa, R. K., Angulo-Escalante, M. A., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2012a). Potential of using phorbol esters as an insecticide against *Spodoptera frugiperda*. *Industrial Crops and Products*, 38, 50-53. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.01.007>
- Devappa, R. K., Sanjay, K. R., Kumar, V., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2012b). Activities of *Jatropha curcas* phorbol esters in various bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.002>
- Dwivedi, J., Gupta, A., & Paliwal, S. (2020). Validated simultaneous HPTLC analysis of scopoletin and gallic acid in the methanolic fraction of *Jatropha glandulifera*. *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC*, 33, 457-462. <https://doi.org/10.1007/s00764-020-00063-8>
- Duque, L. F. C., & López, F. C. (2022). Propiedades químicas del aceite de cinco genotipos de *Jatropha curcas* L. en Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 33(1), 19. <http://doi.org/10.15517/am.v33i1.44555>
- Edrisi, S., Dubey, R., Tripathi, V., Bakshi, M., Srivastava, P., Jamil, S., Singh, H., & Abhilash, P. (2015). *Jatropha curcas* L.: A crucified plant waiting for resurgence. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 855-862. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.082>
- Faria-Machado, A. F., Licurgo, F. M., Pires, J. M., da Silveira-Campos, R., Wilhelm, A. E., de Lourdes, M., & Antoniassi, R. (2019). Method validation for analysis of phorbol esters from *Jatropha curcas*. *Industrial Crops and Products*, 140, 111627. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111627>
- Francis, G., Makkar, H. P., Carle, R., Mittelbach, M., Wink, M., Martinez Herrera, J., & Becker, K. (2021). Critique on conclusions regarding toxic compounds in *Jatropha curcas* kernel cake. *Communications Biology*, 4(1), 1348. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0919-z>
- Fujiki, H., Suttajit, M., Rawangkan, A., Iida, K., Limtrakul, P., Umsumarng, S., & Suganuma, M. (2017). Phorbol esters in seed oil of *Jatropha curcas* L. and their association with cancer prevention. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 143(8), 1359-1369. <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2341-6>
- Govaerts, R., Frodin, D., Radcliffe-Smith, A., & Carter, S. (2012). World checklist and bibliography of *Euphorbiaceae* (with *Pandaceae*) (Vol. 4). Royal Botanic Gardens.
- Halim, A. H. A., Zamberi, M. M., Husin, M. H. M., Haminudin, N. F., Idris, F., & Ghani, S. A. (2022). Physicochemical properties of *Jatropha curcas* oil as a potential feedstock for biodiesel production. *Proceedings of Mechanical Engineering Research Day*, 283-284.
- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. (2005). ICH Q2(R1): Validation of analytical procedures: Text and methodology. https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
- Jaspal, N., Sharma, M., Prashar, D. B., Sharma, R., & Sharma, M. (2023). *Jatropha curcas* L.: A sustainable resource for biofuel feedstock with medicinal and commercial attributes. *Journal of Innovative Agriculture*, 10(3), 1-13. <http://doi.org/10.37446/jinagri/ra/10.3.2023.1-13>
- Jonas, M., Ketlogetswe, C., & Gandure, J. (2022). Quantification of phorbol-12-myristate-13-acetate in *Jatropha* seed oil and cake at different stages of fruit maturity. *International Journal of Environmental Studies*, 79(1), 88-97. <https://doi.org/10.1080/00207233.2021.1903672>
- Kongmany, S., Truong, H., Le, H., Imamura, K., Maeda, Y., & Van Boi, L. (2016). Semi-preparative HPLC separation followed by HPLC/UV and tandem mass spectrometric analysis of phorbol esters in *Jatropha* seed. *Journal of Chromatography B*, 1038, 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.10.021>
- Leyva-Acuña, M. A., Márquez-Zequera, I., García-Estrada, R. S., Soto-Landeros, F., Montes-Avila, J., & Angulo-Escalante, M. A. (2023). High performance thin layer chromatography fingerprint profile and antifungal activity of methanolic extracts of *Jatropha*

- platyphylla*. International Journal of Agriculture and Biology, 29, 164. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2015>
- Leyva-Padrón, G., Vanegas-Espinoza, P. E., Evangelista-Lozano, S., Del Villar-Martínez, A. A., & Bazaldúa, C. (2020). Chemical analysis of callus extracts from toxic and non-toxic varieties of *Jatropha curcas*. PeerJ, 8, e10172. <https://doi.org/10.7717/peerj.10172>
- Li, C. Y., Devappa, R. K., Liu, J. X., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2010). Toxicity of *Jatropha curcas* phorbol esters in mice. Food and Chemical Toxicology, 48, 620–625. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.042>
- Liu, S., Sporer, M., Wink, J., Jourdan, R., & Ruppel, A. (1997). Anthraquinones in *Rheum palmatum* and phorbol esters in *Jatropha curcas* with molluscicidal activity. Tropical Medicine & International Health, 2(2), 179–188. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.1997.d01-240.x>
- Makkar, H. P. S., Aderibigbe, A. O., & Becker, K. (1998). Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas*. Food Chemistry, 62(2), 207–215. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00183-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00183-0)
- Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). Potential of *Jatropha curcas* seed meal as a protein supplement to livestock feed, constraints to its utilization and possible strategies to overcome constraints. Biofuels and Industrial Products from *Jatropha curcas*, 23–27.
- Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2009). *Jatropha curcas*, a promising crop for biodiesel. European Journal of Lipid Science and Technology, 111(8), 773–787. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800244>
- Makkar, H. P. S., Kumar, V., Oyeleye, O., Akinleye, A., Angulo-Escalante, M. A., & Becker, K. (2011). *Jatropha platyphylla*, a new non-toxic *Jatropha* species. Food Chemistry, 125(1), 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.037>
- Neu, P., Schober, S., & Mittelbach, M. (2018). Quantification of phorbol esters in *Jatropha curcas* by HPLC-UV and HPLC-ToF-MS. European Journal of Lipid Science and Technology, 120(4). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201700293>
- Nishshanka, U. H., Jayasuriya, C., Chattopadhyaya, P. J., Kijak, P. S., Chu, R., Reimschuessel, R., Tkachenko, A., Ceric, O., & De Alwis, H. G. (2016). Screening for toxic phorbol esters in jerky pet treat products using LC-MS. Journal of Chromatography B, 1020, 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.03.018>
- Olloqui, E. J., Castañeda-Ovando, A., Evangelista-Lozano, S., Alanís-García, E., Ramírez-Moreno, E., Valadez-Vega, C., & Añorve-Morga, J. (2022). Measurement of nutrients and minor components of a non-toxic variety of *Jatropha curcas*. Journal of Food Measurement and Characterization, 16(2), 1029–1037. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01229-6>
- Oskoueian, E., Abdullah, W. Z., Saad, A., Omar, S., Ahmed, W. B., Kuan, N. A., Zolkifli, R., Hendra, R., & Ho, Y. W. (2011). Bioactive compounds and biological activities of *Jatropha curcas* kernel meal extract. International Journal of Molecular Sciences, 12(9), 5955–5970. <https://doi.org/10.3390/ijms12095955>
- Patel, R. B., Patel, M. R., Bhatt, K. K., & Patel, B. G. (2010). HPTLC method development and validation. Analytical Methods, 2(5), 525–531. <https://doi.org/10.1039/B9AY00259D>
- Pelletier, G., Padhi, B. K., Hawari, J., Sunahara, G. I., & Poon, R. (2015). Development of a sensitive in vitro assay to quantify the biological activity of pro-inflammatory phorbol esters in *Jatropha* oil. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal, 51(6), 644–650. <https://doi.org/10.1007/s11626-014-9851-x>
- Ramadan-Hassanien, M. F. (2023). Bioactive phytochemicals from *Jatropha* oil processing by-products. In Bioactive phytochemicals from vegetable oil and oilseed processing by-products (pp. 485–503). Springer.
- Roach, J. S., Devappa, R. K., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2012). Isolation, stability, and bioactivity of *Jatropha curcas* phorbol esters. Fitoterapia, 83(3), 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.01.006>
- Roque, J., Dias, L., & Teófilo, R. (2017). Multivariate calibration to determine phorbol esters in seeds of *Jatropha curcas* using NIR and UV spectroscopies. Journal of the Brazilian Chemical Society, 28(8), 1506–1516. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160333>
- Salazar-Villa, E., Alcaraz-Meléndez, L., León-Félix, J., Heredia, J. B., Soto-Landeros, F., & Angulo-Escalante, M. A. (2020). Morphological

- variability and oil content of *Jatropha platyphylla* germplasm. *Scientia Horticulturae*, 261, 108968. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108968>
- Shrivastava, A., & Gupta, V. B. (2011). Methods for determination of limit of detection and limit of quantitation. *Chronicles of Young Scientists*, 2(1), 21–25. <https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345>
- Sosa-Segura, M., Dave-Oomah, B., Drover, J., Heredia, J., Osuna-Enciso, T., Valdez-Torres, J., Salazar-Villa, E., Soto-Landeros, F., & Angulo-Escalante, M. (2014). Physical and chemical characterization of three non-toxic oilseeds from the *Jatropha* genus. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(1), 56–61. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-1-10>
- Soto-León, S., López-Camacho, E., Milán-Carrillo, J., Sánchez-Castillo, M. A., Cuevas-Rodríguez, E., Picos-Corrales, L. A., & Contreras-Andrade, I. (2014). *Jatropha cinerea* seed oil as a potential feedstock for biodiesel. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(3), 739–747.
- Vega-Ruiz, Y. C., Hayano-Kanashiro, C., Gámez-Meza, N., & Medina-Juárez, L. A. (2021). Determination of chemical constituents and antioxidant activities of leaves and stems from *Jatropha cinerea* and *Jatropha cordata*. *Plants*, 10(2), 212. <https://doi.org/10.3390/plants10020212>
- Vischi, M., Raranciuc, S., & Baldini, M. (2013). Evaluation of genetic diversity between toxic and nontoxic *Jatropha curcas* accessions using SSR markers. *African Journal of Biotechnology*, 12(3), 265–274. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2155>
- Wakandigara, A., Nhamo, L. R. M., Kugara, J., & Mushonga, P. (2020). Mechanisms of phorbol ester toxicity, determined by molecular modelling. *International Research Journal of Pure & Applied Chemistry*, 21(18), 10–24. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2020/v21i1830267>
- Yamunadevi, M., Wesely, E., & Johnson, M. (2011). Phytochemical studies on terpenoids of *Aerva lanata* using HPTLC. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), S220–S225. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60161-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60161-0)

Causas de diferimiento en candidatos a donación sanguínea: estudio retrospectivo en un hospital de la Huasteca Potosina

Causes of deferral among blood donation candidates: a retrospective study in a hospital of the Huasteca Potosina region

Díaz-Gaytán, J.J.^{1,2} , Pérez-Flores, G.² , Torres-Tirado, D.² , Pérez-García, L.A.^{2*} 

¹Servicio de Transfusión, Clínica Hospital B del ISSSTE, Ciudad Valles, Frontera 1509, Fracc. Altavista, 79050. Ciudad Valles, S.L.P.

²Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Romualdo del Campo 501, Fracc. Rafael Curiel, 79060. Ciudad Valles, S.L.P.

RESUMEN

La seguridad transfusional depende de la aplicación estricta de criterios de selección que minimicen riesgos para donantes y receptores; sin embargo, estos lineamientos pueden generar una proporción considerable de diferimiento. El objetivo de este estudio fue identificar las principales causas de rechazo en candidatos a donación de sangre y analizar su distribución temporal en un hospital de segundo nivel de la Huasteca Potosina. Se realizó un estudio observacional, retrospectivo y de corte transversal, con enfoque descriptivo-analítico y análisis comparativo por periodo semestral, basado en la revisión de 1604 expedientes clínicos de candidatos evaluados en el Servicio de Transfusión de la Clínica Hospital B del ISSSTE, en Ciudad Valles, San Luis Potosí, de enero a diciembre de 2023. Las causas de diferimiento se analizaron conforme a la [NOM-253-SSA1-2012](#). Se realizó un análisis descriptivo y un análisis comparativo exploratorio por semestre mediante prueba exacta de Fisher, cálculo de Odds Ratio con intervalo de confianza al 95% y ajuste por Benjamini-Hochberg para control de la tasa de descubrimientos falsos. El 54.24 % de los candidatos fue diferido. Las principales causas de rechazo fueron suero quiloso (45.75 %), venas no aptas para venopunción (10.80 %), hemoglobina baja (8.51 %), leucocitosis (8.51 %) y extracción incompleta o reserva (6.21 %). En el análisis temporal exploratorio, las asociaciones que se mantuvieron después del ajuste correspondieron a suero quiloso y extracción incompleta/en reserva. En conclusión, el estudio aporta evidencia regional actualizada sobre las principales causas de diferimiento y resalta la importancia de fortalecer las acciones de orientación pre-donación y optimizar los procesos de selección en el contexto regional.

Palabras clave: Donación de sangre, Seguridad transfusional, Diferimiento de donantes, Criterios de exclusión, Servicios de transfusión.

ABSTRACT

Transfusion safety depends on the strict application of donor selection criteria that minimize risks for both recipients and donors; however, these requirements may result in a considerable proportion of donor deferrals. The aim of this study was to identify the main causes of deferral among blood donation candidates and to analyze their temporal distribution in a second-level hospital in the Huasteca Potosina region. An observational, retrospective, cross-sectional study was conducted, with a descriptive-analytical approach and a comparative analysis by semester, based on the review of 1604 clinical records of candidates evaluated at the Transfusion Service of Hospital B of the ISSSTE in Ciudad Valles, San Luis Potosí, from January to December 2023. Causes of deferral were classified according to [NOM-253-SSA1-2012](#) regulations. A descriptive analysis and an exploratory comparative analysis by semester were performed using Fisher's exact test, Odds Ratio calculation with 95 % confidence intervals, and Benjamini-Hochberg adjustment to control the false discovery rate. Overall, 54.24 % of candidates were deferred. The main causes were lipemic serum (45.75 %), unsuitable veins for venipuncture (10.80 %), low hemoglobin (8.51 %), leukocytosis (8.51 %), and incomplete collection or reserve (6.21 %). In the exploratory temporal analysis, the associations that remained after adjustment corresponded to lipemic serum and incomplete collection/reserve status. In conclusion, this study provides updated regional evidence on the main causes of donor deferral and highlights the importance of strengthening pre-donation counseling actions and optimizing selection processes in the regional context.

Keywords: Blood donation, Transfusion safety, Donor deferral, Exclusion criteria, Transfusion services.

INTRODUCCIÓN

Las transfusiones sanguíneas son intervenciones terapéuticas de vital importancia, ya sea para salvar la vida o mejorar la salud de numerosos pacientes; sin embargo, el acceso oportuno a sangre segura continúa siendo un reto en los sistemas de salud, particularmente en países con bajos y medianos ingresos ([World Health Organization, 2025](#)). La disponibilidad de componentes sanguíneos seguros depende, en gran medida, de la participación de donantes adecuados y de la aplicación rigurosa de criterios de selección que garanticen la seguridad tanto del donante como del receptor.

En México, la selección de donantes está regulada por la Norma Oficial Mexicana [NOM-253-SSA1-2012](#), la cual establece los requisitos que deben cumplir los candidatos a donación y define las causas de diferimiento temporal o permanente, con el objetivo de minimizar los riesgos asociados a la transfusión ([Secretaría de Salud, 2012](#)). Si bien estos criterios son indispensables para la seguridad transfusional, su aplicación puede resultar en la exclusión o diferimiento de un número considerable de candidatos, lo que impacta directamente en la disponibilidad de sangre.

De acuerdo con reportes del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea ([CNTS](#)), México ha logrado cubrir sus necesidades básicas de componentes sanguíneos principalmente mediante la donación por reposición; no obstante, la autosuficiencia basada en la donación voluntaria y no remunerada continúa siendo un reto. Este rezago se relaciona tanto con la escasa participación de donantes altruistas y habituales como con la aplicación heterogénea de los criterios de selección de donantes en los distintos servicios de transfusión del país ([Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2024a](#)). En el informe Suministro de sangre y componentes sanguíneos para transfusión en los estados de la República Mexicana en el año 2024 se reporta que durante el periodo 2014-2024 la donación de sangre en México se ha mantenido relativamente estable, con un promedio aproximado de 1.51 millones de donaciones. En 2024 se recolectaron 1 733 054 unidades, de las cuales el estado de San Luis Potosí contribuyó con 31 569 donaciones, lo que representa el 2.08 % del total nacional. En este contexto, la entidad ocupó el lugar 20 en donaciones generales y el cuarto lugar en donación altruista, superando la media nacional en este último rubro ([Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2025](#)).

El diferimiento de candidatos a donación puede obedecer a múltiples factores, entre ellos antecedentes médicos, prácticas de riesgo, parámetros hematológicos fuera de rango o condiciones fisiológicas

transitorias ([Secretaría de Salud, 2012](#)). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que millones de donantes potenciales son rechazados anualmente a nivel mundial por no cumplir con los criterios establecidos en las normativas vigentes, lo que subraya la necesidad de analizar de manera sistemática las causas de exclusión en cada contexto ([Organización Mundial de la Salud, 2012](#)). Esta necesidad se acentúa porque las pruebas predonación pueden variar según la región geográfica en la que se ubique el banco de sangre o el servicio de transfusión. Asimismo, en la interpretación de la biometría hemática, debe considerarse que los valores de hemoglobina pueden presentar variaciones en función de la altitud de la localidad con respecto al nivel del mar, especialmente en candidatos que no residen en la misma ciudad ([Gonzales, 2011](#)).

El diferimiento puede clasificarse, de acuerdo con su duración y fundamento clínico, en temporal, definitivo o indefinido. El diferimiento temporal implica la no aceptación del candidato durante un periodo determinado debido a una condición transitoria; una vez superada dicha condición y cumplido el tiempo de espera establecido, la persona puede ser reevaluada como donante apta. Por su parte, el diferimiento definitivo o exclusión permanente ocurre cuando el individuo presenta una enfermedad o antecedente que contraindica la donación de por vida. Existe además la categoría de diferimiento indefinido, aplicada cuando el intervalo de exclusión no puede precisarse con claridad o cuando persiste un riesgo potencial para el cual no existen pruebas de tamizaje concluyentes ([World Health Organization & International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies, 2010](#); [Secretaría de Salud, 2012](#); [Huaycama-Santana, 2023](#); [Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2024a](#)). En conjunto, el diferimiento constituye un mecanismo esencial de seguridad transfusional, aunque también tiene implicaciones operativas relevantes para los servicios de transfusión, al reducir el número de unidades potencialmente disponibles ([World Health Organization & International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies, 2010](#); [Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2024b](#)).

En México, algunos estudios han analizado las causas de diferimiento de candidatos a donación en bancos de sangre de instituciones de alta especialidad. En el Centro Médico Nacional (CMN) "20 de Noviembre" se evaluaron las principales causas de rechazo en 129 670 predonadores durante el periodo 2010-2018, observándose una tasa de diferimiento del 36.32 %. Las causas más frecuentes de rechazo fueron leucocitosis, valores bajos de hemoglobina y hematocrito, así como condiciones del sistema venoso que dificultaban la venopunción. Asimismo, el análisis de

factores asociados al diferimiento identificó un mayor riesgo de rechazo en candidatos con antecedentes de cáncer, tatuajes recientes y anemia. Por otro lado, en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas" (INER), un estudio realizado entre 2001 y 2005 en 23 910 disponentes mostró que una proporción importante de los rechazos correspondió a causas temporales potencialmente prevenibles, como suero lipémico, mientras que entre las principales causas definitivas se encontraron el sistema venoso inadecuado y antecedentes de perforaciones. En conjunto, estos estudios evidencian que una parte considerable del diferimiento de donantes se concentra en causas recurrentes; sin embargo, los reportes disponibles se concentran en hospitales de tercer nivel y en periodos previos (Ramírez et al., 2011; Navarrete-Castro et al., 2024), lo que limita la extrapolación de sus hallazgos a otros contextos regionales y niveles de atención.

A pesar de la relevancia del tema, en el municipio de Ciudad Valles, San Luis Potosí, se carece de reportes publicados que describan las principales causas de diferimiento en un hospital de segundo nivel. La ausencia de información local dificulta comprender el comportamiento de este fenómeno en una región con características demográficas, culturales y epidemiológicas particulares. Ciudad Valles constituye el principal centro de referencia y polarización de la región Huasteca Potosina, al concentrar servicios de salud de segundo nivel que atienden a población proveniente de los 20 municipios que conforman dicha región. Esta área se caracteriza por una amplia dispersión geográfica, condiciones socioeconómicas heterogéneas y una importante proporción de población indígena, lo que confiere particularidades demográficas, culturales y epidemiológicas que pueden influir en los procesos de selección y diferimiento de donantes de sangre (Comité de Planeación del Desarrollo Estatal, 2022). En este contexto, los servicios de transfusión ubicados en dicho municipio reciben candidatos a donación con antecedentes, prácticas de riesgo y condiciones de salud diversas, lo que hace necesario generar evidencia local que permita comprender las causas de diferimiento en un entorno regional distinto al de los grandes centros urbanos y con dinámicas de atención propias de una zona de referencia intermunicipal.

Por lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo realizar un análisis retrospectivo documental de carácter descriptivo-analítico, con comparación por periodo semestral, para identificar las principales causas de diferimiento de candidatos a donación de sangre durante el año 2023 en el Servicio de Transfusión de la Clínica Hospital B del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) en Ciudad

Valles, S.L.P. Los resultados obtenidos permitirán generar evidencia local útil para comprender este fenómeno en la región y orientar acciones de mejora en los procesos de selección de donantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo y de corte transversal, con enfoque descriptivo-analítico y análisis comparativo por periodo semestral. La población de estudio estuvo conformada por todos los candidatos a donación de sangre que acudieron al Servicio de Transfusión de la Clínica Hospital B del ISSSTE en Ciudad Valles, San Luis Potosí, durante el periodo comprendido del 1 de enero al 31 de diciembre de 2023. Se incluyeron en el análisis todos los registros correspondientes a candidatos sometidos a valoración predonación durante dicho periodo. Se excluyeron únicamente los registros duplicados correspondientes al mismo evento de evaluación, de modo que cada evento de valoración fue contabilizado una sola vez. No se identificaron expedientes con información incompleta, por lo que no fue necesario excluir ningún registro por datos faltantes.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE DATOS

La información fue obtenida a partir de la revisión documental de los expedientes clínicos y registros internos del Servicio de Transfusión. Se recabaron las siguientes variables: edad, sexo, ocupación, lugar de procedencia, parentesco con el receptor, servicio hospitalario que solicitaba la donación, resultados de laboratorio predonación y motivo de diferimiento, así como la fecha correspondiente a la evaluación. Las causas de diferimiento se recuperaron tal como fueron consignadas en los expedientes por el personal del Servicio de Transfusión durante la valoración predonación, con base en la práctica habitual del servicio y en los lineamientos institucionales sustentados en la NOM-253-SSA1-2012 y en la Guía nacional de criterios para la selección de donantes de sangre y sus componentes sanguíneos para uso terapéutico (Secretaría de Salud, 2012; Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2024a). Para el análisis, se conservaron las denominaciones registradas en el expediente, con el propósito de respetar la clasificación originalmente utilizada en la práctica institucional y evitar reclasificaciones retrospectivas no sustentadas en información adicional.

Dada su frecuencia y relevancia en los resultados, se precisaron las siguientes categorías operativas: suero quiloso, hemoglobina baja, venas no aptas, leucocitosis, en reserva y extracción incompleta. "Suero quiloso" correspondió a los casos registrados en el expediente cuando la muestra

sanguínea del candidato mostró lipemia mayor o igual a tres cruces, de acuerdo con la imagen de referencia incluida en la Guía nacional de criterios para la selección de donantes de sangre y sus componentes sanguíneos para uso terapéutico (Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2024a). No se realizó verificación bioquímica adicional de esta categoría, por tratarse de un estudio retrospectivo documental con base en los registros rutinarios del servicio. "Hemoglobina baja" se consideró cuando el valor registrado estuvo por debajo del punto de corte establecido por el servicio conforme a la normativa vigente, correspondiente a 125 g/L en mujeres y 135 g/L en hombres, de acuerdo con la altitud de la región (Secretaría de Salud, 2012). "Venas no aptas" correspondió a los casos en los que el expediente indicó que las condiciones del acceso venoso no eran adecuadas para una flebotomía segura. "Leucocitosis" se consideró cuando el recuento leucocitario registrado fue superior a 10.5×10^3 células/ μ L (Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2024a). "En reserva" correspondió a los casos en que el expediente señaló que las unidades de sangre solicitadas para el paciente ya habían sido completadas. "Extracción incompleta" correspondió a los casos en que el volumen de sangre recolectado no fue suficiente para completar una unidad, independientemente de la causa.

Para algunos análisis, las causas de diferimiento se agruparon, con base en reportes previos, en las siguientes categorías: disponentes diferidos relacionados con la salud, disponentes diferidos relacionados con riesgo conductual, disponentes diferidos por anemia y disponentes diferidos por otras causas, estas últimas no incluidas en las categorías previas (Navarrete-Castro et al., 2024). Esta agrupación se utilizó únicamente con fines analíticos para facilitar la comparación temporal entre periodos semestrales y reducir la dispersión derivada del gran número de causas específicas registradas en los expedientes. No obstante, las frecuencias principales se presentan con base en la denominación original registrada en el expediente. Los datos de identificación personal fueron eliminados del registro analítico para garantizar la confidencialidad. La base de datos final fue capturada, depurada y organizada en una hoja de cálculo de Microsoft Excel 365 para su posterior análisis estadístico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis descriptivo de las variables generales de la población de estudio, así como de las causas de diferimiento, mediante frecuencias absolutas y porcentajes, considerando su distribución global y por semestre del año (enero-junio y julio-diciembre). Adicionalmente, se efectuó un

análisis comparativo de carácter exploratorio entre ambos semestres. Para ello, en cada causa específica de diferimiento se comparó la presencia de la causa de interés frente al conjunto de las demás causas en cada semestre. Este procedimiento permitió identificar variaciones relativas en la frecuencia de cada causa dentro del total de diferimientos registrados en ambos periodos, sin asumir relaciones causales ni establecer modelos explicativos ajustados.

Se aplicó una prueba exacta de Fisher y se calcularon Odds Ratios (OR), con intervalos de confianza al 95 % (IC 95 %) obtenidos por el método de Baptista-Pike. Dado el número de comparaciones realizadas, los valores de p se ajustaron para control de la tasa de descubrimientos falsos mediante el procedimiento de Benjamini-Hochberg (FDR-BH). Debido al carácter transversal del estudio y a la finalidad exploratoria de estas comparaciones temporales, los OR se utilizaron como medidas de asociación con fines descriptivo-comparativos, por lo que sus resultados deben interpretarse con cautela y no como estimadores directos de riesgo. El análisis estadístico se realizó con el software GraphPad Prism versión 9.0 para Windows, y el ajuste por Benjamini-Hochberg se efectuó posteriormente, con ayuda de Microsoft Excel 365, sobre los valores de p obtenidos. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo en el análisis no ajustado, y un valor de $q < 0.05$ como significativo después del ajuste por comparaciones múltiples.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se clasificó como una investigación sin riesgo, al tratarse de un análisis retrospectivo de información documental sin intervención directa de los participantes. Se garantizó la confidencialidad de los datos mediante la anonimización de los registros y el uso exclusivo de la información para los fines de estudio. El protocolo de investigación fue evaluado por el Comité de Ética e Investigación de la Clínica Hospital B del ISSSTE en Ciudad Valles, bajo el número de registro 003-CEI/2024, autorizando el acceso a los datos institucionales para su análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CANDIDATOS Y TASA DE DIFERIMIENTO

Durante el periodo de estudio, se evaluaron 1 604 candidatos a donación de sangre en el Servicio de Transfusión de la Clínica Hospital B del ISSSTE en Ciudad Valles, San Luis Potosí. Todos los expedientes fueron incluidos en el estudio. De estos, 734 (45.76 %) fueron aceptados y 870 (54.24 %) diferidos,

obteniéndose un índice de rechazo global de 54.24 % (Tabla 1). Esta proporción se encuentra dentro del rango reportado en estudios realizados en otros bancos de sangre del país. En el INER se documentó un rechazo del 63.9 % (Ramírez et al., 2011), mientras que en el CMN “20 de Noviembre” del ISSSTE se reportó un 36.32% en el periodo del 2012 al 2019 (Navarrete-Castro et al., 2024). Estas variaciones pueden relacionarse con diferencias en el perfil de los donantes, en los criterios operativos de selección o en las características demográficas regionales, particularmente si se considera que se trata de hospitales de tercer nivel de atención que reciben población referida de múltiples entidades del país. El presente análisis aporta evidencia generada en un hospital de segundo nivel con cobertura regional, lo que permite contextualizar los hallazgos en un entorno distinto al de los grandes centros urbanos y ampliar la comparación nacional con información proveniente de una unidad hospitalaria de referencia intermunicipal.

Tabla 1. Características generales de los candidatos evaluados y tasa de diferimiento

Variable	Donantes aceptados n = 734	Donantes rechazados n = 870
Hombres	661 (90.05 %)	604 (69.43 %)
Mujeres	73 (9.95 %)	266 (30.57 %)
Índice de diferimiento	--	(54.24 %)
Edad mediana	--	33 años

Entre los candidatos diferidos, 604 (69.43 %) correspondieron a hombres y 266 (30.57 %) a mujeres. El rango de edades de los donantes rechazados fue de 18 a 65 años, con una mediana de 33 años. El grupo etario con mayor proporción de diferimiento fue el de 18 a 29 años (39.31 %), mientras que el grupo de 50 a 63 años presentó la menor proporción (10.69 %) (Tabla 1). En conjunto, estos datos indican que aproximadamente el 60% de los diferimientos se concentró en candidatos menores de 40 años. Este hallazgo podría relacionarse con una mayor participación de población joven en la donación por reposición o con hábitos de vida que influyen en algunas causas de exclusión, como el suero quiloso o el riesgo conductual. Asimismo, la baja proporción de diferimientos en adultos mayores puede asociarse a menor frecuencia de presentación como candidatos a donación en este grupo etario.

En cuanto al tipo de donación entre los candidatos diferidos, el 57.82 % correspondió a donantes alogénicos, el 37.47 % a donantes familiares o de reposición y únicamente el 4.71 % a donantes altruistas. Estos datos reflejan que, dentro del conjunto de candidatos diferidos, la proporción correspondiente a donantes altruistas fue considerablemente menor en comparación con los donantes alogénicos y de reposición. Lo anterior es consistente con el contexto nacional, donde la donación voluntaria aún representa un desafío estructural (Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, 2025). La baja proporción de diferimientos en donantes altruistas podría sugerir un perfil de mayor preparación o mayor adherencia de los criterios de selección, sin embargo, este aspecto requiere estudios comparativos específicos.

PRINCIPALES CAUSAS DE DIFERIMIENTO

Las causas de diferimiento se distribuyeron de manera heterogénea. La causa más frecuente fue la presencia de suero quiloso, que representó el 45.75 % de los casos. Este hallazgo es congruente con lo observado en el INER, donde el suero quiloso fue la causa más frecuente de rechazo (Ramírez et al., 2011); sin embargo, la proporción observada en nuestro estudio es considerablemente mayor a la descrita en otros centros, como el CMN Siglo XXI (6.3 %) (Castell-Martínez, 2010); el Instituto de Seguridad Social del Estado de México y Municipios (ISSEMyM; 21%) (López et al., 2003), el Hospital General de Ciudad Obregón (4.7%) (Rubio-López, 2014), el CMN “20 de Noviembre” (4.04 %) (Navarrete-Castro et al., 2024) y el propio INER (15.7 %) (Ramírez et al., 2011). Dada la naturaleza retrospectiva y documental del presente estudio, no es posible establecer la base etiológica de esta diferencia. La frecuencia observada podría estar relacionada con distintos factores, entre ellos el cumplimiento variable a las recomendaciones de ayuno previo a la donación o condiciones metabólicas subyacentes de la población atendida; sin embargo, estas posibilidades deben considerarse únicamente como hipótesis interpretativas, ya que no fueron evaluadas de manera directa en este trabajo. En este sentido, la mayor frecuencia estatal reportada de enfermedades crónicas como diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y obesidad en San Luis Potosí (Secretaría de Salud, 2024) puede considerarse únicamente como un elemento contextual y no como una explicación demostrada de los hallazgos. Además, es importante señalar que esta categoría se analizó de acuerdo con su registro en el expediente clínico y no fue objeto de verificación bioquímica adicional en el presente estudio.

En segundo lugar, se encontraron las venas no aptas para venopunción (10.80 %), lo cual es consistente con lo reportado previamente en el ISSEMyM (24 %) y en el Hospital General de Ciudad Obregón, donde ocupó el segundo lugar entre las causas de diferimiento (López et al., 2003; Rubio-López, 2014), así como en el CMN "20 de Noviembre", donde se posicionó en el tercer lugar (11.64 %) (Navarrete-Castro et al., 2024). Este tipo de diferimiento depende en gran parte de las condiciones anatómicas del donante y de factores técnicos propios del procedimiento de flebotomía, por lo que su frecuencia también puede verse influida por las características operativas del servicio y por el perfil vascular de la población atendida.

La hemoglobina baja y la leucocitosis representaron cada una el 8.51 % de los diferimientos. Al analizar las causas de diferimiento según el sexo, se observó que en los hombres el suero quiloso constituyó más de la mitad de los casos (55.63 %, $n = 336$), seguido a distancia por la leucocitosis (9.27 %, $n = 56$) y las venas no aptas para venopunción (8.61 %, $n = 52$). En las mujeres, aunque el suero quiloso también fue la causa más frecuente (23.31 %, $n = 62$), su proporción fue 2.4 veces menor que la observada en los hombres. En este grupo destacaron además la hemoglobina baja y las venas no aptas, ambas con una frecuencia del 15.79 % ($n = 42$ cada una), mostrando una distribución más homogénea entre las principales causas de diferimiento. La Figura 1 muestra las cinco principales causas de diferimiento identificadas durante el periodo de estudio.

La hemoglobina baja como causa de diferimiento, particularmente en mujeres, es un patrón que ya ha sido previamente descrito en la literatura nacional (Castell-Martínez, 2010; Araiza-Soto et al., 2015; Navarrete-Castro et al., 2024). Aunque suele relacionarse con factores fisiológicos propios del sexo femenino, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) señala que mujeres con pérdidas menstruales excesivas y niveles bajos de hemoglobina deben ser referidas para evaluación clínica (Organización Panamericana de la Salud, 2009). Además, la NOM-253-SSA1-2012 establece puntos de corte diferenciados por sexo y altitud, lo que influye directamente en la proporción de diferimientos por este motivo. Considerando que Ciudad Valles se encuentra a aproximadamente 70 metros sobre el nivel del mar, los valores mínimos establecidos para diferimiento son <13.5 g/dL en hombres y <12.5 g/dL en mujeres, lo cual debe tomarse en cuenta al comparar con estudios realizados en ciudades de mayor altitud (Secretaría de Salud, 2012). Estos factores son relevantes para interpretar la frecuencia observada en este estudio y para contextualizarla frente a reportes generados en regiones con condiciones geográficas distintas.

Por otro lado, la leucocitosis como una de las principales causas de diferimiento es comparable con lo reportado en otros centros del país (Rubio-López, 2014; Navarrete-Castro et al., 2024). Su presencia puede reflejar procesos infecciosos subclínicos o transitorios en los candidatos a donación, lo que reafirma la importancia de la biometría hemática como herramienta de tamizaje predonación.

La extracción incompleta o en reserva constituyó la quinta causa de diferimiento (6.21 %). En los casos clasificados como reserva, el donante cumplía los criterios de elegibilidad, pero no se realizó la extracción por haberse alcanzado el número de unidades requeridas. La extracción incompleta, por su parte, estuvo relacionada con eventos adversos durante la flebotomía que obligaron a suspender el procedimiento. A diferencia de otras causas, esta categoría depende en mayor medida de factores operativos y circunstanciales. El resto de las causas se agruparon en categorías con frecuencias individuales menores (Tabla 2).

Tabla 2. Causas de diferimiento en candidatos a donación de sangre

Causa	N	%
Suero quiloso	398	45.75
Venas no aptas	94	10.80
Hemoglobina baja	74	8.51
Leucocitosis	74	8.51
En reserva/Extracción incompleta	54	6.21
Hipertensión	36	4.14
Hipotensión	31	3.56
Cx./vacunación/Tx. dental reciente	24	2.76
Ayuno prolongado	18	2.07
Infección reciente/Lesiones en sitio de punción	15	1.72
Positivo a Brucelosis (Título 1:40)	12	1.38
Tatuajes, acupuntura o perforaciones <1 año	10	1.15
Donación reciente	6	0.69
Drogas de abuso	6	0.69
Prácticas sexuales de riesgo	5	0.57
Peso inferior a 50 kg	4	0.46
Enfermedades crónicas mal controladas	3	0.34
Otras	6	0.69

Nota: Cx.: cirugía; Tx.: tratamiento.

DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DEL DIFERIMIENTO

En el análisis mensual se observó una variación importante en la frecuencia de diferimientos. El mes con mayor número de candidatos rechazados fue diciembre ($n = 92$; 10.57 %), mientras que febrero registró la menor cantidad ($n = 47$; 5.40 %). En diciembre se evaluaron 132 candidatos en total, de los cuales el 69.69 % fue diferido, constituyéndose como el mes con menor proporción de donaciones efectivas. Al dividir el periodo de estudio en dos semestres (enero-junio y julio-diciembre), se observó una mayor proporción de diferimientos durante el segundo semestre. Las causas relacionadas con la salud y el riesgo conductual tendieron a ser más frecuentes en el primer semestre, mientras que el suero quiloso, clasificado en Otras causas, mostró mayor frecuencia en el segundo semestre. Estas variaciones intra-anales no han sido ampliamente documentadas en estudios previos y podrían reflejar fluctuaciones temporales en la dinámica de atención o en la afluencia de candidatos; sin embargo, esta posibilidad debe interpretarse con cautela. En cuanto al comportamiento mensual, estas diferencias podrían asociarse con factores temporales propios del contexto asistencial, como las campañas de vacunación para infecciones estacionales o cambios en la disponibilidad de donantes; no obstante, el presente estudio no fue diseñado para evaluar de manera específica dichas explicaciones. Aun así, la identificación de este comportamiento aporta información útil para la planeación operativa del servicio y para la organización de acciones de orientación en periodos con mayor frecuencia de diferimiento.

Para explorar posibles cambios en las causas de rechazo a lo largo del año se realizó un análisis estadístico bivariado, en el que todas las causas de rechazo se clasificaron en cuatro grupos de acuerdo con lo reportado previamente (Navarrete-Castro et al., 2024). En el análisis no ajustado se observó una asociación entre el semestre y el diferimiento global ($OR = 0.8066$; IC 95 %: 0.6623 – 0.9815; $p = 0.0352$); sin embargo, esta asociación no se mantuvo después del ajuste por comparaciones múltiples ($q = 0.0968$). En este sentido, las diferencias observadas entre semestres deben interpretarse como hallazgos exploratorios, más que como evidencia concluyente de variaciones temporales atribuibles a factores específicos.

Los diferimientos por causas relacionadas con la salud mostraron mayor frecuencia en el primer semestre en el análisis no ajustado ($OR = 1.7300$, IC 95 %: 1.1400 – 2.6100; $p = 0.0126$), pero estas diferencias no se mantuvieron tras el ajuste ($q = 0.0513$). De igual forma, los rechazos relacionados con

riesgo conductual fueron más frecuentes en el primer semestre en el análisis no ajustado ($OR = 3.2400$, IC 95%: 1.2200 – 8.1000; $p = 0.0257$), aunque esta asociación tampoco persistió después del ajuste ($q = 0.0808$). No se observaron diferencias significativas entre semestre en los casos de anemia ($p = 0.4058$; $q = 0.6694$).

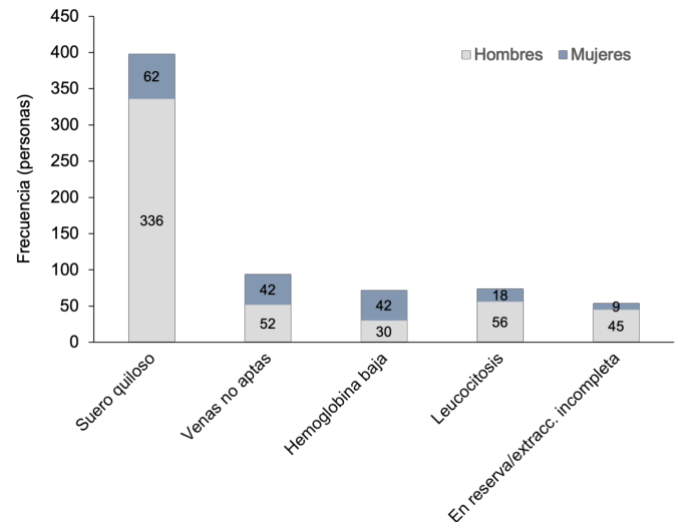


Figura 1. Principales causas de diferimiento según sexo. Distribución de las cinco causas más frecuentes de diferimiento en candidatos a donación de sangre atendidos durante 2023 en el Servicio de Transfusión de la Clínica Hospital B del ISSSTE, Ciudad Valles, San Luis Potosí.

Por otro lado, los disponibles diferidos por otras causas fueron más frecuentes en el segundo semestre, y esta asociación se mantuvo después del ajuste por comparaciones múltiples ($OR = 0.6147$; IC 95%: 0.5068 – 0.7477; $p < 0.0001$; $q = 0.0022$). Dentro de este grupo, el suero quiloso también mostró mayor frecuencia en el segundo semestre y conservó significancia tras el ajuste ($OR = 0.6292$; IC 95%: 0.4591 – 0.8598; $p = 0.0035$; $q = 0.0330$). Asimismo, la categoría extracción incompleta / en reserva fue más frecuente en el primer semestre y también mantuvo significancia después del ajuste ($OR = 2.2620$; IC 95 %: 1.2750 – 3.9010; $p = 0.0060$; $q = 0.0330$). En contraste, aunque el ayuno prolongado fue más frecuente en el primer semestre en el análisis no ajustado ($OR = 3.6210$; IC 95 %: 1.3580 – 9.2850; $p = 0.0143$), esta asociación no se mantuvo después del ajuste ($q = 0.0513$). Algunas causas presentaron frecuencia nula en uno de los dos semestres (Tabla 3). En conjunto, estos resultados sugieren que la variación temporal observada se concentró principalmente en un subconjunto de causas específicas, más que en un cambio uniforme del patrón global de diferimiento.

Tabla 3. Asociación entre causas de diferimiento y semestre del año

Causa del diferimiento	Enero-junio n/total	Julio- diciembre n/total	OR	IC 95% (OR)	p-valor	q (FDR-BH) aprox.
Total de donantes diferidos/Total de donantes de sangre (Comparación entre semestre 1 vs semestre 2)^a	399/775	471/829	0.8066	0.6623 – 0.9815	0.0352	0.0968
Disponentes diferidos relacionados con la salud^b	62/870	37/870	1.7280	1.1380 – 2.6090	0.0126	0.0513
Hipertensión ^c	25/62	11/37	1.5970	0.6879 – 3.7560	0.3882	0.6694
Hipotensión ^c	17/62	14/37	0.6206	0.2551 – 1.5420	0.3706	0.6694
Infección reciente/Lesiones cutáneas ^c	10/62	5/37	1.2310	0.3948 – 3.4710	0.7810	0.9100
Otra enfermedad ^c	10/62	7/37	0.8242	0.2980 – 2.187	0.7859	0.9100
Disponentes diferidos relacionados con riesgo conductual^b	16/870	5/870	3.2410	1.2170 – 8.1030	0.0257	0.0808
Prácticas sexuales de riesgo ^d	2/16	3/5	0.0952	0.0129 – 0.8061	0.0630	0.1540
Drogas de abuso ^d	5/16	1/5	1.8180	0.1645 – 26.2100	>0.9999	0.9999
Tatuajes, acupuntura o perforaciones <1 año ^d	9/16	1/5	5.1430	0.5257 – 68.7800	0.3108	0.6694
Disponentes diferidos por anemia^b	33/870	41/870	0.7972	0.4943 – 1.2550	0.4058	0.6694
Disponentes diferidos por otras causas^b	288/870	388/870	0.6147	0.5068 – 0.7477	<0.0001	0.0022
Suero quiloso ^e	151/288	247/388	0.6292	0.4591 – 0.8598	0.0035	0.0330
Vacunación reciente ^e	9/288	15/388	0.8022	0.3335 – 1.7700	0.6781	0.8775
Estatura/peso bajo ^e	1/288	3/388	0.4472	0.0343 – 3.0130	0.6402	0.8775
En reserva/extracción incompleta ^e	33/288	21/388	2.2620	1.2750 – 3.9010	0.0060	0.0330
Donación reciente ^e	6/288	0/388	--	--	0.0058	0.0330
Ayuno prolongado ^e	13/288	5/388	3.6210	1.3580 – 9.2850	0.0140	0.0513
Venas difíciles ^e	39/288	55/388	0.9483	0.6042 – 1.4860	0.9106	0.9999
Leucocitosis ^e	34/288	40/388	1.1650	0.7256 – 1.9000	0.5365	0.7869
Falta de sueño ^e	1/288	2/388	0.6725	0.0463 – 5.8100	>0.9999	0.9999
Sin ayuno ^e	1/288	0/388	--	--	0.4260	0.6694

Nota: OR: Odds Ratio; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; q: valor de p ajustado para control de la tasa de descubrimientos falsos (FDR) mediante el procedimiento de Benjamini-Hochberg (BH). Los Odds Ratios se calcularon utilizando el segundo semestre (julio-diciembre) como categoría de referencia. Un OR > 1 indica mayor frecuencia en el primer semestre (enero-junio), mientras que un OR < 1 indica mayor frecuencia en el segundo semestre. Las comparaciones se realizaron mediante prueba exacta de Fisher.

^aTotal de donantes diferidos/Total de donantes de sangre en el semestre correspondiente. ^bNúmero de candidatos con la variable agrupada/número total de candidatos diferidos en el año. ^cNúmero de candidatos con la variable/ número total de candidatos diferidos relacionados con la salud. ^dNúmero de candidatos con la variable/total de candidatos diferidos con riesgo conductual. ^eNúmero de candidatos con la variable/total de candidatos diferidos por otras causas.

Entre las limitaciones del estudio se encuentra su carácter retrospectivo y la dependencia de la información consignada en los expedientes clínicos.

Debido a la naturaleza retrospectiva documental del estudio, no fue posible corroborar de manera independiente la base clínica o bioquímica de algunos

motivos de diferimiento registrados en los expedientes, ni distinguir entre posibles etiologías subyacentes. En consecuencia, los resultados deben interpretarse como una descripción de los motivos de rechazo documentados en la práctica institucional, más que como una validación diagnóstica de cada causa. Asimismo, la población analizada estuvo conformada principalmente por donantes alogénicos y de reposición, con una baja proporción de donantes altruistas. Por ello, los hallazgos deben interpretarse dentro del contexto institucional estudiado y extrapolarse con cautela a servicios de transfusión con mayor proporción de donantes voluntarios repetitivos. Finalmente, aunque existen estudios nacionales parecidos, la literatura específica sobre la distribución temporal del diferimiento es limitada, lo que restringe la comparación directa de estos hallazgos con otros contextos.

En conjunto, los hallazgos del presente estudio aportan evidencia regional actualizada sobre las principales causas de diferimiento en un hospital de segundo nivel que funge como centro de referencia en la Huasteca Potosina. De igual manera, subrayan la importancia de fortalecer las acciones de orientación dirigidas a mejorar la preparación pre-donación, particularmente ante causas frecuentes registradas en la práctica institucional, como el suero quiloso.

CONCLUSIONES

El presente estudio evidenció que más de la mitad de los candidatos evaluados fueron diferidos, siendo el suero quiloso la principal causa de rechazo. En el análisis temporal exploratorio, las diferencias entre semestres se concentraron principalmente en el grupo de Otras causas, en especial en el suero quiloso y en la categoría de extracción incompleta / en reserva, las cuales conservaron su significancia después del ajuste por comparaciones múltiples. Asimismo, una proporción importante de los diferimientos se concentró en causas recurrentes documentadas en la práctica institucional.

Estos hallazgos aportan evidencia regional actualizada sobre el comportamiento del diferimiento en un hospital de segundo nivel y resaltan la importancia de fortalecer las acciones de orientación pre-donación y de optimizar los procesos de selección, particularmente ante causas frecuentes como el suero quiloso, con el fin de mejorar la eficiencia operativa del servicio de transfusión en el contexto regional.

CONFLICTO DE INTERESES

Todos los autores declaran no tener conflictos de intereses y están de acuerdo con el contenido de la presente investigación.

REFERENCIAS

- Araiza-Soto, M. E., Ayala-Castro, Y. M., Borbón-Villareal, R. A., González-Núñez, J. P., Icedo-Beltrán, G. E., & Robles-Córdova, A. N. (2015). Causas de rechazo de donadores de sangre. *Revista de Divulgación Científica*, 5(11), 49-52.
- Castell-Martínez, J. (2010). Resúmenes de trabajos libres del VIII Congreso de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C. *Revista Mexicana de Medicina Transfusional*, 3(S1), 92-118. <https://www.medigraphic.com/pdfs/transfusional/mt-2010/mts101p.pdf>
- Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. (2024a). Guía nacional de criterios para la selección de donantes de sangre y sus componentes sanguíneos para el uso terapéutico. <http://www.gob.mx/cnts/documentos/recursos-guias-y-documentos-en-medicina-transfusional>
- Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. (2024b). Guía nacional de criterios para la selección de donantes de sangre y sus componentes sanguíneos para el uso terapéutico. Secretaría de Salud. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/943510/9-Gula_de_seleccion_de_donadores_v3.pdf
- Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. (2025). Suministro de sangre y componentes sanguíneos para transfusión en los estados de la República Mexicana en el año 2024. Secretaría de Salud. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/1023463/us_o_de_sangre_2024_-_FINAL.pdf
- Comité de Planeación del Desarrollo Estatal. (2022). Plan estatal de desarrollo 2021-2027. Gobierno del Estado de San Luis Potosí. <https://ped.slp.gob.mx/assets/files/Completo.pdf>
- Gonzales, G. F. (2011). Hemoglobina y testosterona: Importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 28(1), 92-100. <https://doi.org/10.1590/S1726-46342011000100015>
- Huaycama-Santana, A. E. (2023). Causas de diferimiento en postulantes a donantes de sangre en la unidad prestadora de servicio de hemoterapia y banco de sangre del Hospital III Iquitos EsSalud-2020 [Tesis de licenciatura, Universidad Científica del Perú]. Repositorio Institucional de la Universidad Científica del Perú. <https://repositorio.ucp.edu.pe/server/api/core/bitstreams/7891b3f7-8a56-4b4f-8ede-dc2e2dc9dfd7/content>

- López, L. A., Mejía, M. D., Reyes, N. P., Santoyo, J., Hernández, M. I., Ibarra, J. de J., & Selva, J. E. (2003). Simposio: La medicina transfusional de sur a norte. I. La medicina transfusional en Puebla. II. La medicina transfusional en Toluca, Estado de México. III. La medicina transfusional en el estado de Hidalgo. IV. La medicina transfusional en el estado de Zacatecas. V. La medicina transfusional en Jalisco. VI. La medicina transfusional en el estado de Sinaloa. VII. La medicina transfusional en Baja California Norte. *Gaceta Médica de México*, 139(3), 131-144. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=11258>
- Navarrete-Castro, J., de La Fuente-Dorado, L., Siria-Torreblanca, N., de La Rosa-Romero, N., Lebrija-Córdova, V., Alvarado-Torres, C., Solano-Martínez, K. E., López-Negrete, A. A., Ortiz-Zepeda, S. M., Navarrete Siria, J. K., & Navarrete-Castro, R. (2024). Análisis multivariado de las 10 principales causas de rechazo en donadores de sangre del CMN 20 de Noviembre, ISSSTE. *Revista Mexicana de Medicina Transfusional*, 16(1), 7-15. <https://doi.org/10.35366/114940>
- Organización Mundial de la Salud. (2012). Selección de donantes de sangre: Directrices para evaluar la idoneidad de los donantes para la donación de sangre. Organización Mundial de la Salud. <https://iris.who.int/handle/10665/76724>
- Organización Panamericana de la Salud. (2009). Elegibilidad para la donación de sangre: Recomendaciones para la Educación y la Selección de Donantes. Organización Panamericana de la Salud. Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/documentos/elegibilidad-para-donacion-sangre-recomendaciones-para-educacion-seleccion-donantes>
- Ramírez, R. G., Noriega, L. M., & Rodríguez, R. B. (2011). Diez causas de rechazo de disponentes en banco de sangre del INER en el periodo 2001-2005. *Revista Mexicana de Medicina Transfusional*, 4(1), 6-9. <https://www.medigraphic.com/pdfs/transfusional/mt-2011/mt111b.pdf>
- Rubio-López, R. M. (2014). Causas de rechazo de candidatos a donación de sangre en el Hospital General de Cd. Obregón, Sonora durante el periodo de mayo a octubre 2013 [Tesis de licenciatura, Universidad de Sonora]. Repositorio Institucional UNISON. <http://repositorioinstitucional.uson.mx/handle/20.500.12984/2043>
- Secretaría de Salud. (2012). Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/cnts/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-253-ssa1-2012-para-la-disposicion-de-sangre-humana-y-sus-componentes-con-fines-terapeuticos>
- Secretaría de Salud. (2024). Boletín epidemiológico: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Sistema Único de Información 2023. Gobierno de México. <http://www.gob.mx/salud/documentos/boletin-epidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-261547>
- World Health Organization. (2025). Blood safety and availability. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/blood-safety-and-availability>
- World Health Organization & International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies (Eds.). (2010). Towards 100% voluntary blood donation: A global framework for action. World Health Organization. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK30566>

Detección molecular de *Treponema pallidum* mediante PCR del gen *tpn47* en sangre periférica de voluntarios atendidos en laboratorios clínicos de Culiacán

Molecular detection of *Treponema pallidum* by PCR of the *tpn47* gene in peripheral blood of volunteers treated in clinical laboratories of Culiacán

Navarro-Arias M.J.¹ , Sicaños-Félix J.² , Durán-Pérez S.A.¹ , Parra-Unda J. R.³ , Vázquez-Vega S.⁴  y Rendón-Maldonado J.G.^{1*} 

¹Laboratorio de Microscopía, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80030

²Laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80030

³Unidad de investigación en salud pública "Dra. Kaethe Wilms", Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80030

⁴Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Avenida Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc, C.P. 06720, Ciudad de México

RESUMEN

La sífilis, causada por *Treponema pallidum*, es una infección de transmisión sexual reemergente en México cuyo diagnóstico convencional basado en pruebas serológicas presenta limitaciones de sensibilidad en ciertas etapas clínicas, especialmente en sangre periférica debido a la baja y transitoria carga bacteriana. El objetivo de este estudio fue detectar ADN de *T. pallidum* mediante PCR convencional dirigida al gen *tpn47* en 74 muestras de sangre periférica de individuos de Sinaloa, en un estudio transversal con muestreo no probabilístico por conveniencia, cuyas muestras fueron obtenidas entre mayo y diciembre de 2023. Los participantes voluntarios fueron atendidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la FCQB-UAS y laboratorios privados de Culiacán. La extracción de ADN se realizó mediante el método DTAB-CTAB y se amplificó un fragmento de 210 pb del gen diana, utilizando el gen β -actina como control interno para confirmar la ausencia de inhibidores de PCR. Se detectó ADN de *T. pallidum* en 8 de 74 muestras (10.8 %; IC95 %: 4.8-20.5 %), con una positividad de 11.9 % (5/42) en hombres y 9.4 % (3/32) en mujeres; el 87.5 % de los casos positivos (7/8) se concentró en el grupo de 16 a 23 años, con una edad promedio de 21 años (DE ± 3.2), mientras que solo se identificó un caso en el grupo de 24 a 45 años. Se concluye que la PCR dirigida al gen *tpn47* es útil para la detección de ADN de *T. pallidum* en sangre periférica, y que la frecuencia observada en adultos jóvenes resalta la importancia de incorporar técnicas moleculares como complemento diagnóstico y herramienta de vigilancia epidemiológica de la sífilis en Sinaloa.

Palabras clave: Sífilis, *Treponema pallidum*, PCR, *tpn47*, diagnóstico molecular.

ABSTRACT

Syphilis, caused by *T. pallidum*, is a re-emerging sexually transmitted infection in Mexico, where conventional diagnosis based on serological tests presents sensitivity limitations in certain clinical stages, particularly in peripheral blood due to low and transient bacterial load. This study aimed to detect *T. pallidum* DNA by endpoint PCR targeting the *tpn47* gene in 74 peripheral blood samples from individuals in Sinaloa, in a cross-sectional study with non-probabilistic convenience sampling. Samples were obtained between May and December 2023 from volunteers attending the Clinical Analysis Laboratory of FCQB-UAS and private laboratories in Culiacán. DNA extraction was performed using the DTAB-CTAB method, and a 210 bp fragment of the target gene was amplified. β -actin was used as an internal control to confirm the absence of PCR inhibitors. *T. pallidum* DNA was detected in 8 of 74 samples (10.8 %; 95 % CI: 4.8-20.5 %), with positivity rates of 11.9 % (5/42) in men and 9.4 % (3/32) in women. Most positive cases (87.5 %, 7/8) were concentrated in the 16-23-year age group, with a mean age of 21 years (SD ± 3.2), while only one case was detected in the 24-45-year group. It is concluded that PCR targeting the *tpn47* gene is useful for detecting *T. pallidum* DNA in peripheral blood, and the observed frequency in young adults highlights the importance of incorporating molecular techniques as a diagnostic complement and epidemiological surveillance tool for syphilis in Sinaloa.

Keywords: Syphilis, *Treponema pallidum*, PCR, *tpn47*, molecular diagnosis.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) representan un importante problema de salud pública global debido a sus repercusiones sanitarias y socioeconómicas (Organización Mundial de la Salud, 2023). Cada año se estiman aproximadamente 374 millones de nuevos casos de ITS curables en el mundo, de los cuales cerca de 7.1 millones corresponden a sífilis, enfermedad causada por la espiroqueta *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Organización Mundial de la Salud, 2023). La sífilis presenta una evolución clínica compleja y progresiva, que puede avanzar desde una fase primaria caracterizada por lesiones locales hasta etapas tardías asociadas con complicaciones sistémicas graves, como neurosífilis, sífilis cardiovascular y sífilis congénita, en ausencia de tratamiento oportuno (Peeling et al., 2023). Se ha descrito que la persistencia de la sífilis a nivel mundial está influenciada por factores sociales, conductuales y limitaciones en el acceso a los servicios de salud, lo que dificulta su control efectivo en poblaciones vulnerables (Hook & Peeling, 2004; Rowley et al., 2019).

T. pallidum es una espiroqueta de metabolismo anaerobio cuya membrana externa contiene diversas lipoproteínas inmunogénicas. Entre ellas destaca la proteína de 47 kDa codificada por el gen *tpn47*, ampliamente estudiada por su conservación entre cepas patógenas y su relevancia en la interacción bacteria-hospedero (Lee et al., 2000). Esta proteína se ha asociado con procesos de persistencia bacteriana y de respuesta inmunológica durante la infección (Norgard et al., 1986; Radolf et al., 1988). Por estas características, el gen se ha utilizado como blanco molecular relevante en estudios diagnósticos y epidemiológicos. Houston et al. (2022) también propusieron que la proteína *TpN47* podría participar en mecanismos vinculados a la persistencia bacteriana en el torrente sanguíneo durante las fases iniciales de la infección, lo que respalda su uso como blanco molecular en muestras de sangre periférica total.

El diagnóstico de la sífilis se basa tradicionalmente en pruebas serológicas clasificadas en no treponémicas, como VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) y RPR (Rapid Plasma Reagin), así como en pruebas treponémicas, entre las que destacan FTA-ABS (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) y TPPA (Treponema pallidum Particle Agglutination) (Satyaputra et al., 2021). Estas pruebas presentan limitaciones importantes, ya que las pruebas no treponémicas pueden mostrar una sensibilidad variable dependiendo del estadio clínico de la infección y generar resultados falsos positivos en condiciones como el embarazo, enfermedades autoinmunes e infecciones virales (Gayet-Ageron et al., 2015; Soreng et al., 2014). Aunque las pruebas treponémicas presentan alta especificidad, no

permiten diferenciar entre una infección activa y una infección previa, debido a que los anticuerpos antitreponémicos pueden persistir durante toda la vida (Chen et al., 2022). La interpretación serológica puede complicarse en casos de coinfección con otras infecciones de transmisión sexual (ITS), lo que evidencia la necesidad de métodos diagnósticos complementarios con mayor precisión diagnóstica (Clement et al., 2014). En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA2-2014, "Para la prevención y control de las infecciones de transmisión sexual" (Secretaría de Salud, 2015), regula el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica de la sífilis. Esta norma indica que el diagnóstico debe realizarse combinando pruebas serológicas no treponémicas (VDRL o RPR) y treponémicas (FTA-ABS o TPPA), utilizando el algoritmo tradicional, que inicia con pruebas no treponémicas seguidas de la confirmación con pruebas treponémicas, o el algoritmo reverso, según la disponibilidad de recursos diagnósticos.

La NOM también establece el tamizaje obligatorio en mujeres embarazadas y la notificación inmediata de los casos identificados. Sin embargo, no incluye el uso rutinario de técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como método confirmatorio, pese a su utilidad en etapas tempranas de la infección o ante resultados serológicos discordantes. La incorporación de métodos moleculares podría complementar las estrategias diagnósticas actuales y contribuir a una detección más oportuna, especialmente en poblaciones vulnerables o cuando la respuesta serológica es limitada. Diversos lineamientos internacionales han destacado el valor de las técnicas moleculares como apoyo al diagnóstico y a la vigilancia epidemiológica de la sífilis (Unemo et al., 2017).

Las técnicas moleculares permiten detectar directamente el material genético de *T. pallidum* en muestras biológicas. Entre ellas, la PCR se ha utilizado ampliamente para identificar el ADN del microorganismo en diversos tipos de muestras clínicas. En sangre periférica total, esta técnica ha sido empleada para identificar ADN bacteriano asociado con la diseminación hematogena del patógeno, incluso durante etapas tempranas de la infección o fases de latencia, cuando las pruebas serológicas pueden resultar indeterminadas o negativas (Grange et al., 2012; Shields et al., 2012).

Los genes 16S ARNr, *polA* y *tpn47* de *T. pallidum* han sido evaluados como blancos moleculares; *tpn47* ha mostrado una adecuada especificidad diagnóstica debido a su conservación genética y baja homología con treponemas no patógenos, reduciendo la posibilidad de amplificación

inespecífica (Gayet-Ageron et al., 2015; Salazar et al., 2024). La PCR convencional dirigida a este gen ha sido utilizada en estudios epidemiológicos y de frecuencia poblacional debido a su reproducibilidad y accesibilidad metodológica (Mikhail et al., 2009; Orle et al., 1996; Palmer et al., 2003). En comparación con técnicas moleculares más complejas, presenta menores requerimientos de infraestructura y costos operativos, favoreciendo su implementación en regiones con recursos limitados (Gayet-Ageron et al., 2009; Palmer et al., 2003).

En México, la información epidemiológica sobre la infección por *T. pallidum* es limitada. Un estudio nacional de seroprevalencia reportó una prevalencia de anticuerpos antitreponémicos de 3.1% en adultos (Salazar et al., 2024). Aunque los registros oficiales documentan miles de casos nuevos de sífilis cada año, es probable que estas cifras subestimen la magnitud de la infección debido al subdiagnóstico y a las limitaciones asociadas con las pruebas serológicas rutinarias (Ibáñez-Cervantes et al., 2020). En la última década se ha reportado un aumento de casos de sífilis, especialmente en hombres y mujeres en edad reproductiva (Ibáñez-Cervantes et al., 2020; Rochel-Perez et al., 2024). Esta tendencia destaca la importancia de incorporar herramientas diagnósticas complementarias, incluidas técnicas moleculares en muestras de sangre periférica.

En el estado de Sinaloa, la información epidemiológica sobre la infección por *T. pallidum* es limitada, lo que dificulta determinar su magnitud y comportamiento en la población. Además, se carece de evidencia sobre el uso de métodos moleculares para su detección, especialmente en muestras de sangre periférica. Dada la importancia de la sífilis como problema de salud pública y la falta de datos en la región, este estudio evaluó la detección de ADN de *T. pallidum* mediante PCR convencional dirigida al gen *tpn47* en muestras de sangre periférica de voluntarios atendidos en laboratorios clínicos de Culiacán, Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, que incluyó 74 muestras de sangre periférica recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA procedentes de participantes voluntarios de cualquier grupo etario. Los pacientes fueron atendidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa y en laboratorios privados de diagnóstico clínico de Culiacán,

Sinaloa, durante el periodo de mayo a diciembre de 2023. Para menores de edad, se obtuvo el consentimiento de los tutores y el asentimiento del participante. Se excluyeron muestras con volumen insuficiente o con condiciones inadecuadas para el análisis molecular. Debido al carácter anonimizado del estudio, no se contó con información sobre el historial médico, sospecha clínica, tratamiento previo o diagnóstico previo de sífilis. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital de la Mujer, Culiacán, Sinaloa (Dictamen 20230213), y el manejo de los datos se realizó conforme a los principios de la Declaración de Helsinki.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir de 3 mL de sangre periférica utilizando la metodología descrita por Gustincich et al., (1991), con modificaciones menores. Las muestras se sometieron a lisis eritrocitaria con buffer BLE (*Red Blood Cell Lysis Buffer*), seguida de centrifugación para recuperar la pastilla celular. Posteriormente, las células se lisaron con buffer DTAB al 8% (bromuro de dodeciltrimetilamonio) y el ADN se purificó mediante extracción con cloroformo y precipitación con CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio) y etanol absoluto. El ADN obtenido se lavó con etanol al 70%, se resuspendió en agua desionizada estéril y se almacenó a -20°C hasta su uso.

La concentración y pureza del ADN se determinaron mediante espectrofotometría en un NanoDrop™ 2000 *Spectrophotometer* (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). La integridad del ADN se verificó mediante la metodología descrita por Kim et al. (2020), con la amplificación de un fragmento de ~600 pb del gen β -actina como control interno, utilizando los primers 5'-GCA CCA CAC CTT CTA CAA TG-3' y 5'-TGC TTG CTG ATC CAC ATC TG-3'.

PCR para *tpn47*

La amplificación del gen *tpn47* de *T. pallidum* subsp. *pallidum* se realizó siguiendo el protocolo establecido por Pinilla et al., (2015). Se emplearon un par de primers dirigidos al gen, cuya especificidad se confirmó previamente mediante análisis bioinformático utilizando la herramienta *Primer-BLAST* del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), empleando la secuencia (CP148145.1) del gen *tpn47* como referencia. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 20 μL , utilizando MgCl_2 3 mM, dNTPs 200 μM , 0.25 μM de cada oligonucleótido iniciador (*tpn47*-1sifF: 5'-GCATTGCTTAAGGCCGTTG-3' y *tpn47*-1sifR: 5'-AAGCAGTCGAGGGTGCAGTA-3'), 0.5 U de Taq ADN polimerasa (Promega®, Madison, WI, USA) y 100 ng de ADN

molde. La reacción se llevó a cabo en un termociclador Bio-Rad T100 Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) con un programa de desnaturalización inicial a 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 30 s, alineamiento a 62 °C por 30 s y extensión a 72 °C 30s, 72 °C 5 min, con un producto de amplificación esperado de 210 pb (Pinilla et al., 2015). Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % teñido con GelRed® (Biotium, Fremont, CA, USA). En cada experimento se incluyó un control positivo, ADN previamente confirmado como positivo para *T. pallidum* mediante técnicas serológicas (TPPA/FTA-ABS, pruebas de referencia para el diagnóstico de sífilis), así como un control negativo con agua libre de nucleasas para descartar contaminación y amplificación inespecífica.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando GraphPad Prism versión 9. Las variables cuantitativas se presentaron como media $\pm$ desviación estándar (DE) y rango. La frecuencia de positividad molecular se estimó mediante intervalos de confianza del 95 % (IC95 %). Para las comparaciones entre grupos se utilizó la prueba exacta de Fisher, y las razones de prevalencia (RP) se calcularon con sus respectivos IC95%. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La integridad del ADN genómico extraído de las 74 muestras de sangre periférica se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Todas las muestras presentaron bandas íntegras y definidas, lo que indica una adecuada conservación del material genético. La cuantificación espectrofotométrica mediante NanoDrop mostró una concentración promedio de ADN de 310.66 ng/ μ L (DE: $\pm$ 45.2 ng/ μ L) y una relación A260/280 de 1.87. Este valor se encuentra dentro del intervalo esperado para ADN de buena pureza (1.8–2.0), lo que sugiere baja contaminación proteica y calidad adecuada del material genético.

La integridad y capacidad de amplificación del ADN se verificó mediante la amplificación de un fragmento del gen constitutivo β -actina, lográndose amplificación en el 100% de las muestras analizadas (Figura 1A). Estos resultados sugieren la ausencia de inhibidores que puedan afectar la PCR y confirman la calidad del ADN utilizado. El incluir de controles internos en los ensayos moleculares nos permitió evaluar la calidad del ADN y reducir la posibilidad de resultados falsamente negativos asociados con fallas técnicas o inhibición de la reacción. En este estudio, la amplificación del

gen β -actina en todas las muestras fue consistente con una adecuada integridad del material genético. Dado que las muestras se recolectaron en tubos con EDTA, la posibilidad de interferencia asociada con anticoagulantes como la heparina fue minimizada, ya que se ha reportado que esta puede afectar la actividad de la ADN polimerasa y disminuir la eficiencia de amplificación (Yokota et al., 1999).

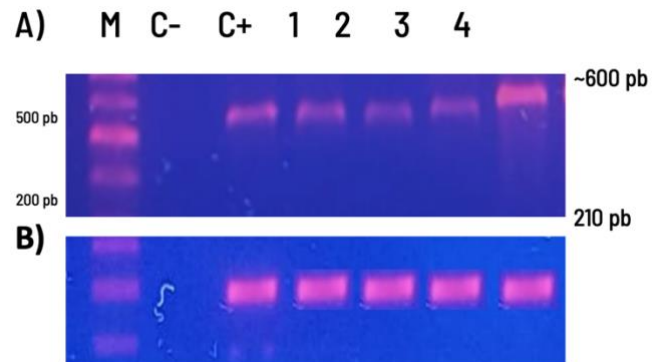


Figura 1. Identificación molecular de *T. pallidum*. A) Amplificación del gen β -actina (~600 pb). B) Amplificación del gen *tpn47* (210 pb) en muestras de sangre periférica. M: marcador 100 pb; C-: control negativo (ausencia de ADN) C+: Control positivo (ADN de *T. pallidum*); carriles 1-4: muestras positivas representativas de participantes voluntarios que acudieron a laboratorios de análisis clínicos. Electroforesis en gel de agarosa al 2 %, 120 V.

Los oligonucleótidos empleados para la amplificación del gen *tpn47* de *T. pallidum* fueron evaluados mediante análisis bioinformático utilizando la herramienta PCR in Silico Simulation of Molecular Biology Experiments, con la secuencia de referencia *T. pallidum* strain SS14-GFP (CP148145.1) disponible en GenBank. El análisis confirmó la alineación específica de los primers sobre la región blanco y la generación teórica de un fragmento de aproximadamente 210 pb en cepas patógenas. La especificidad de los oligonucleótidos se corroboró mediante BLASTn, sin identificarse alineamientos con secuencias humanas ni con otros microorganismos no relacionados, lo que respalda la especificidad teórica de la PCR utilizada (datos no mostrados).

La selección del gen *tpn47* como blanco molecular se fundamentó en la evidencia disponible en comparación con otros genes empleados para la detección de *T. pallidum*, como *poIA* (ADN polimerasa I) y *flaA* (flagelina). Diversos estudios han señalado que *tpn47* constituye una diana adecuada debido a su naturaleza de copia única y a la presencia de regiones conservadas que favorecen una hibridación eficiente de los primers.

Aunque *polA* ha mostrado un buen desempeño diagnóstico en varios estudios (Liu et al., 2001), análisis de epidemiología molecular han descrito variabilidad genética entre cepas de *T. pallidum* que podría afectar el rendimiento analítico de algunos ensayos de amplificación (Čejková et al., 2015; Giacani & Lukehart, 2014). Además, *tpn47* presenta especificidad para *T. pallidum* subsp. *pallidum* y no amplifica fragmentos de treponemas no patógenos, lo que representa una ventaja frente a *flaA*, debido a la homología descrita entre este último y otras especies treponémicas (Centurion-Lara et al., 1997). La proteína *TpN47* codificada por este gen es inmunogénica y se expresa durante el curso de la infección, por lo que constituye un blanco molecular útil incluso en etapas tempranas de bacteriemia (Pillay et al., 1998). Adicionalmente, estudios previos han reportado sensibilidades elevadas para *tpn47* en muestras de lesiones primarias y un desempeño diagnóstico variable pero consistente en sangre periférica, superando en algunos estudios el rendimiento observado con otros marcadores moleculares (Gayet-Ageron et al., 2015; Marks et al., 2018). Esta robustez analítica es particularmente importante en el contexto de la sífilis, donde la carga bacteriana en sangre es típicamente baja y transitoria.

En el presente estudio se logró detectar la presencia de ADN de *T. pallidum* en 8 de las 74 muestras evaluadas, frecuencia de detección del 10.8 % (IC95 %: 4.8–20.5 %). Las muestras positivas presentaron el amplicón esperado de 210 pb (Figura 1B), consistente con la especificidad esperada del ensayo. Esta frecuencia es superior a la seroprevalencia reportada en donadores de sangre en México (0.64 %) (Mejía-Aguirre et al., 2025), y se encuentra dentro del rango descrito en otros estudios moleculares en sangre periférica, donde las tasas de detección varían entre el 2 % y el 15 % (Costa-Silva et al., 2018; Grange et al., 2012). La detección del 10.8 % sugiere la presencia de ADN treponémico circulante en la población estudiada. Dicha frecuencia fue superior a algunas seroprevalencias previamente reportadas en poblaciones mexicanas específicas, lo cual tiene implicaciones importantes para las estrategias de prevención y control. Esta discrepancia entre la detección molecular y la seroprevalencia reportada podría explicarse por diferencias metodológicas entre la detección molecular y serológica, así como por las características poblacionales incluidas en cada estudio. Algunos individuos podrían haber eliminado la infección espontáneamente o posterior al tratamiento sin desarrollar anticuerpos persistentes. Además, la población de donadores de sangre suele estar sometida a criterios de exclusión asociados con factores de riesgo, mientras que en el presente estudio se incluyó población general joven sin dicho filtro. Estos hallazgos

sugieren la utilidad potencial de la PCR como herramienta para la detección directa del microorganismo, particularmente en muestras de sangre periférica, donde la bacteriemia suele caracterizarse por baja carga bacteriana y presencia transitoria del patógeno en circulación (Grange et al., 2012). Sin embargo, debido a que el estudio se basó exclusivamente en detección molecular y no incluyó evaluación clínica ni pruebas serológicas, los resultados deben interpretarse como evidencia de ADN treponémico circulante y no como confirmación definitiva de infección activa.

En Latinoamérica, la detección molecular de *T. pallidum* ha sido reportada en varios países con frecuencias variables. En Brasil, estudios en la región amazónica han documentado la detección de ADN de *T. pallidum* en sangre periférica mediante técnicas de PCR, con frecuencias cercanas al 5–7 % en poblaciones comunitarias, utilizando principalmente genes diana como *polA* (Avelino et al., 2023; Ferreira et al., 2014). En poblaciones de mayor vulnerabilidad como en el norte de Brasil se han reportado prevalencias de infección o exposición que pueden superar el 10 % mediante enfoques serológicos y moleculares combinados (Avelino et al., 2023). En Chile y otros países de la región, estudios en poblaciones clave han descrito frecuencias de infección o exposición treponémica superiores al 10 % en grupos de alto riesgo, lo cual es consistente con lo observado en nuestro estudio (Avelino et al., 2023). En Perú, investigaciones han utilizado PCR múltiple con genes como *tpn47* y *polA*, evidenciando una mayor sensibilidad diagnóstica del primero para la detección de ADN de *T. pallidum* en sangre periférica (Pinilla et al., 2015). Estos hallazgos sugieren que el gen *tpn47* representa una diana molecular con buen desempeño para la detección de la bacteria en sangre periférica en distintos contextos latinoamericanos. En México, los estudios moleculares son limitados y se concentran principalmente en poblaciones de donadores de sangre, donde se ha reportado detección baja de ADN treponémico mediante *polA* (Ferreira et al., 2014). Estas diferencias pueden atribuirse tanto al tipo de población estudiada como a la sensibilidad de los blancos moleculares utilizados. Estos resultados aportan evidencia sobre la detección molecular de *T. pallidum* en sangre periférica en el noroeste de México y amplían el conocimiento sobre la circulación del patógeno en la población joven de la región.

La incorporación de herramientas moleculares para detectar *T. pallidum* puede complementar los métodos diagnósticos actuales, especialmente en fases tempranas de la infección. En estas etapas, las pruebas serológicas pueden presentar sensibilidad limitada debido a títulos bajos o a la ausencia de anticuerpos detectables (Heymans et al., 2010; Peeling et al., 2023). Se ha

reportado que la PCR permite detectar ADN treponémico en sangre periférica incluso antes de la seroconversión en sífilis primaria (Flipse et al., 2023), lo que sugiere su utilidad para el diagnóstico temprano y la identificación de infecciones recientes en individuos asintomáticos. La detección directa del microorganismo, sin depender de la respuesta inmune del huésped, puede resultar útil en poblaciones inmunocomprometidas, en las que la producción de anticuerpos puede estar alterada o retrasada. La PCR dirigida al gen *tpn47* podría contribuir a la detección temprana y complementar los algoritmos diagnósticos convencionales.

En relación con las características sociodemográficas, la población de estudio estuvo conformada por 42 hombres (56.8 %) y 32 mujeres (43.2 %), con edades entre 16 y 45 años. La positividad para *T. pallidum* fue de 11.9 % en hombres y 9.4 % en mujeres, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (RP: 1.27; IC95 %: 0.33–4.92; $p = 0.727$, prueba exacta de Fisher) (Tabla 1). El intervalo de confianza amplio indica una baja precisión en la estimación de la razón de prevalencias. Esto puede relacionarse con el tamaño muestral limitado y el reducido número de casos positivos. Nuestros hallazgos son consistentes con la mayor incidencia de sífilis reportada en varones a nivel mundial (Centers for Disease Control and Prevention, 2022; Newman et al., 2015). En México, los sistemas de vigilancia epidemiológica han reportado consistentemente una razón hombre:mujer que varía entre 2:1 y 4:1 en los últimos años, lo cual respalda la dirección de la tendencia observada en nuestro estudio (Secretaría de Salud, 2015). Diversos factores biológicos, conductuales y sociales, incluyendo diferencias en las redes de transmisión sexual, prácticas sexuales de riesgo (particularmente sexo sin protección entre hombres que tienen sexo con hombres), menor acceso a servicios de salud preventiva y estigmatización, podrían contribuir a este patrón epidemiológico (Refugio & Klausner, 2018; Stoltey & Cohen, 2015; Tsuboi et al., 2021). Adicionalmente, se han reportado que podrían existir diferencias en la respuesta inmune entre sexos que influyan en la duración y magnitud de la espiroquetemia, aunque se requieren más investigaciones para confirmar esta hipótesis (Peeling et al., 2023).

La edad promedio de los individuos positivos fue de 21 años (DE: 3.2). La distribución por grupo etario mostró frecuencias de positividad del 11.8 % (4/34) en el grupo de 19–23 años, 11.1 % (3/27) en el grupo de 16–18 años y 7.7 % (1/13) en el grupo de 24–45 años (Tabla 2). Los grupos de 24–30 años y 31–45 años fueron fusionados debido al reducido tamaño muestral y a la ausencia de casos positivos en el grupo de mayor edad, lo que resultó en un

grupo combinado de 24–45 años con 13 participantes y un caso positivo. Los adolescentes y adultos jóvenes de 16 a 23 años representaron la mayor concentración de casos positivos con el 87.5% (7/8), lo que coincide con las tendencias epidemiológicas reportadas. Este patrón coincide con las tendencias epidemiológicas globales que muestran una mayor frecuencia de infecciones de transmisión sexual en adolescentes y adultos jóvenes (Centers for Disease Control and Prevention, 2022; Newman et al., 2015). El hecho de que solo se detectara un caso en el grupo de 24–45 años, aunque en parte explicable por el reducido tamaño muestral ($n=13$), también podría reflejar diferencias en las conductas de riesgo entre grupos etarios o una mayor conciencia sobre prácticas sexuales seguras en adultos de mayor edad. Factores como el inicio temprano de la actividad sexual, la multiplicidad de parejas y el uso inconsistente de preservativos han sido asociados previamente con una mayor incidencia de sífilis en poblaciones jóvenes (Dehne & Riedner, 2001; Organización Mundial de la Salud, 2023).

Tabla 1. Positividad para ADN de *T. pallidum* según sexo

Sexo	n	Positivos n (%)	RP (IC95%)	Valor p*
Hombres	42	5 (11.9)	1.27 (0.33–4.92)	0.727
Mujeres	32	3 (9.4)	Referencia	
Total	74	8 (10.8)		

*Prueba exacta de Fisher.

RP: Razón de Prevalencias (Prevalence Ratio).

IC95 %: Intervalo de confianza del 95 %.

Al comparar estos resultados con investigaciones previas, se observa variabilidad en las tasas de detección molecular de *T. pallidum*, atribuible principalmente a diferencias metodológicas y al tipo de muestra analizada. Los estudios realizados en lesiones sífilíticas han reportado sensibilidades superiores al 70–80 % (Costa-Silva et al., 2018; Koek et al., 2006). En contraste, la detección en sangre periférica es menor, lo cual probablemente se debe a la naturaleza transitoria de la bacteriemia (Grange et al., 2012). Específicamente, para el gen *tpn47*, Koek et al. (2006) reportaron una sensibilidad del 78% en muestras de lesiones primarias, mientras que en sangre periférica la detección fue inferior al 15%. Nuestro hallazgo de un 10.8% de positividad en sangre periférica se sitúa dentro de ese rango esperable. La frecuencia observada parece superior a la seroprevalencia reportada en donadores de sangre en México (0.64 %)

(Mejía-Aguirre et al., 2025) y también superior al 4.2 % encontrado en población general de Brasil (Costa-Silva et al., 2018). Estas diferencias pueden explicarse por las particularidades metodológicas entre estudios (PCR detecta ADN bacteriano circulante, mientras que las pruebas serológicas detectan respuesta inmunológica), así como por diferencias en la epidemiología local de sífilis, en los criterios de inclusión de participantes y en la sensibilidad de los ensayos moleculares empleados. Una revisión sistemática y metaanálisis publicada en 2011 evidenció que la detección del ADN bacteriano de *T. pallidum* en muestras de sangre es significativamente menos sensible que en lesiones cutáneas, con una variabilidad considerable según la técnica de PCR empleada y la población estudiada (Peng et al., 2011). Estudios más recientes, como la revisión de la literatura entre 1964 y 2017, confirman que las pruebas moleculares directas en sangre periférica presentan rendimientos heterogéneos, y que la elección de la diana genética (por ejemplo, genes como *tpn47* o *poIA*) influye en la sensibilidad, aunque no se reporta una frecuencia global de detección consolidada (Theel et al., 2020). Una revisión sistemática sobre biomarcadores en sífilis ha señalado que la PCR en sangre es una herramienta prometedora, aunque aún presenta limitaciones en su estandarización, lo que contribuye a la variabilidad en los porcentajes de detección reportados entre los estudios (Lorenz et al., 2023).

Las pruebas serológicas convencionales también presentan limitaciones, como falsos positivos en pruebas no treponémicas y dificultad para diferenciar entre infección activa y pasada en pruebas treponémicas (Satyaputra et al., 2021). En comparación, la PCR detecta directamente el material genético del microorganismo y aporta información complementaria en ciertos contextos clínicos. La persistencia del ADN treponémico en sangre puede disminuir tras el tratamiento, mientras que las pruebas serológicas pueden permanecer reactivas durante meses o años. En algunos estudios longitudinales, la negativización de la PCR se observó entre 2 y 4 semanas posteriores al tratamiento con penicilina, sugiriendo su utilidad como indicador temprano de respuesta terapéutica (Flipse et al., 2023). La combinación de métodos moleculares y serológicos podría mejorar la interpretación diagnóstica y apoyar la vigilancia epidemiológica de la sífilis (Treger et al., 2025).

Si bien este estudio se centró en la detección del gen *tpn47*, los resultados positivos permiten considerar análisis complementarios, como la secuenciación o genotipificación de cepas circulantes, así como la evaluación de mutaciones asociadas a resistencia antimicrobiana,

especialmente en el gen 23S rRNA relacionado con resistencia a macrólidos (Lukehart et al., 2004; Stamm, 2010). Estas estrategias podrían fortalecer la vigilancia molecular de la sífilis en México.

Tabla 2. Distribución de la positividad para ADN de *T. pallidum* por grupo etario

Grupo etario (años)	Muestras analizadas n (%)	Positivos n/N (%)	Positividad (%)
16-18	27 (36.5)	3/27	11.1
19-23	34 (45.9)	4/34	11.8
24-45*	13 (17.6)	1/13	7.7
Total	74 (100)	8/74	10.8

*Los grupos de 24-30 y 31-45 se fusionaron por reducido tamaño muestral y ausencia de positivos en el grupo de mayor edad. Prueba exacta de Fisher: $p > 0.05$ (sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos etarios).

Entre las limitaciones del estudio se encuentran el tamaño muestral reducido y no probabilístico, lo que limita la generalización de los resultados. La ausencia de información clínica y serológica impide distinguir entre infección activa, infección latente o bacteriemia transitoria. El diseño transversal no permite evaluar la evolución de los casos. Además, no se analizaron mutaciones asociadas a resistencia, lo que representa una línea futura de investigación. A pesar de estas limitaciones, el estudio aporta evidencia preliminar sobre la detección de ADN de *T. pallidum* en la población analizada y sugiere la utilidad de integrar herramientas moleculares y serológicas en futuros estudios con diseños longitudinales y muestras más representativas.

CONCLUSIONES

Se detectó ADN de *T. pallidum* en muestras de sangre periférica mediante PCR convencional dirigida al gen *tpn47*, con una positividad del 10.8% en la población analizada. Los resultados respaldan la utilidad potencial de este gen como blanco molecular para la detección directa del microorganismo en sangre periférica y representan una aproximación preliminar al diagnóstico molecular de sífilis en el estado de Sinaloa. No obstante, se requieren estudios con mayor número de muestras, integración de pruebas serológicas y evaluación clínica para validar estos hallazgos y definir el papel de las herramientas moleculares en la vigilancia epidemiológica y el diagnóstico complementario de la sífilis en México.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los voluntarios que participaron en este estudio mediante la donación de muestras, así como a los laboratorios clínicos por su apoyo en la recolección de estas.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

APROBACIÓN DE COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital de la Mujer, Culiacán, Sinaloa (Dictamen 202302-13).

FINANCIAMIENTO

El presente proyecto fue financiado con recursos propios del Laboratorio de Microscopía de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

REFERENCIAS

- Avelino, M. E. de S., Silva, A. S. da, Figueiredo, L. G. C. P. de, Fonseca, R. R. de S., Menezes, C. R., Lima, S. S., Mendes, A. L., Silva, C. H. B. da, Reis, I. V. S. dos, Nunes, H. B. de F., Sequeira, B. J., & Machado, L. F. A. (2023). Exposure to *Treponema pallidum* Infection among Adolescent and Young Adult Women in Roraima, Amazon Region of Brazil. *Microorganisms*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102382>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2022). Sexually transmitted disease surveillance 2021. U.S. Department of Health and Human Services. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/147167>
- Čejková, D., Strouhal, M., Norris, S. J., Weinstock, G. M., & Šmajš, D. (2015). A Retrospective Study on Genetic Heterogeneity within *Treponema* Strains: Subpopulations Are Genetically Distinct in a Limited Number of Positions. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004110>
- Centurion-Lara, A., Castro, C., Shaffer, J. M., Van Voorhis, W. C., Marra, C. M., & Lukehart, S. A. (1997). Detection of *Treponema pallidum* by a sensitive reverse transcriptase PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6). <https://doi.org/10.1128/jcm.35.6.1348-1352.1997>
- Chen, W., Luo, H., Zeng, L., Pan, Y., Parr, J. B., Jiang, Y., Cunningham, C. H., Hawley, K. L., Radolf, J. D., Ke, W., Ou, J., Yang, J., Yang, B., & Zheng, H. (2022). A suite of PCR-LwCas13a assays for detection and genotyping of *Treponema pallidum* in clinical samples. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32250-y>
- Clement, M. E., Okeke, N. L., & Hicks, C. B. (2014). Treatment of syphilis: A systematic review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 312(18). <https://doi.org/10.1001/jama.2014.13259>
- Costa-Silva, M., Coutinho, D., Sobrinho-Simões, J., Azevedo, F., & Lisboa, C. (2018). Cross-sectional study of *Treponema pallidum* PCR in diagnosis of primary and secondary syphilis. *International Journal of Dermatology*, 57(1). <https://doi.org/10.1111/ijd.13823>
- Dehne, K. L., & Riedner, G. (2001). Sexually transmitted infections among adolescents: The need for adequate health services. *Reproductive Health Matters*, 9(17). [https://doi.org/10.1016/S0968-8080\(01\)90021-7](https://doi.org/10.1016/S0968-8080(01)90021-7)
- Ferreira, S. C., De Almeida-Neto, C., Nishiya, A. S., Di-Lorenzo-Oliveira, C., Ferreira, J. E., Alencar, C. S., Levi, J. E., Salles, N. A., Mendrone-Junior, A., & Sabino, E. C. (2014). Prevalence of *Treponema pallidum* DNA among blood donors with two different serologic tests profiles for syphilis in São Paulo, Brazil. *Vox Sanguinis*, 106(4). <https://doi.org/10.1111/vox.12111>
- Flipse, J., Niekamp, A. M., Dirks, A., Dukers-Muijters, N. H. T. M., Hoebe, C. J. P. A., Wolfs, P., & van Loo, I. H. M. (2023). Refining Timely Diagnosis of Early Syphilis by Using *Treponema pallidum* PCR or IgM Immunoblotting Next to Conventional Serology for Syphilis. *Journal of Clinical Microbiology*, 61(6). <https://doi.org/10.1128/jcm.00112-23>
- Gayet-Ageron, A., Ninet, B., Toutous-Trellu, L., Lautenschlager, S., Furrer, H., Piguat, V., Schrenzel, J., & Hirschel, B. (2009). Assessment of a real-time PCR test to diagnose syphilis from diverse biological samples. *Sexually Transmitted Infections*, 85(4). <https://doi.org/10.1136/sti.2008.034314>
- Gayet-Ageron, A., Combescure, C., Lautenschlager, S., Ninet, B., & Perneger, T. V. (2015). Comparison of diagnostic accuracy of PCR targeting the 47-kilodalton protein membrane gene of *Treponema pallidum* and PCR targeting the DNA polymerase I gene: Systematic review and meta-analysis. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 53, Number 11). <https://doi.org/10.1128/JCM.01619-15>

- Giacani, L., & Lukehart, S. A. (2014). The endemic treponematoses. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 27, Number 1). <https://doi.org/10.1128/CMR.00070-13>
- Grange, P. A., Gressier, L., Dion, P. L., Farhi, D., Benhaddou, N., Gerhardt, P., Morini, J. P., Deleuze, J., Pantoja, C., Bianchi, A., Lassau, F., Avril, M. F., Janier, M., & Dupina, N. (2012). Evaluation of a PCR test for detection of *Treponema pallidum* in swabs and blood. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3). <https://doi.org/10.1128/JCM.00702-11>
- Gustincich, S., Manfioletti, G., Del Sal, G., Schneider, C., & Carninci, P. (1991). A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *BioTechniques*, 11(3), 298-302. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1931026/>
- Heymans, R., Van Der Helm, J. J., De Vries, H. J. C., Fennema, H. S. A., Coutinho, R. A., & Bruisten, S. M. (2010). Clinical value of *Treponema pallidum* real-time PCR for diagnosis of syphilis. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(2). <https://doi.org/10.1128/JCM.00720-09>
- Hook, E. W., & Peeling, R. W. (2004). Syphilis Control — A Continuing Challenge. *New England Journal of Medicine*, 351(2). <https://doi.org/10.1056/nejmp048126>
- Houston, S., Schovanek, E., Conway, K. M. E., Mustafa, S., Gomez, A., Ramaswamy, R., Haimour, A., Boulanger, M. J., Reynolds, L. A., & Cameron, C. E. (2022). Identification and Functional Characterization of Peptides with Antimicrobial Activity From the Syphilis Spirochete, *Treponema pallidum*. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.888525>
- Ibáñez-Cervantes, G., León-García, G., Vargas-De-León, C., Castro-Escarpulli, G., Bandala, C., Sosa-Hernández, O., Mancilla-Ramírez, J., Rojas-Bernabé, A., Cureño-Díaz, M. A., Durán-Manuel, E. M., Cruz-Cruz, C., Bravata-Alcántara, J. C., Juárez-Ascencio, D., & Bello-López, J. M. (2020). Epidemiological behavior and current forecast of syphilis in Mexico: increase in male population. *Public Health*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2020.05.057>
- Koek, A. G., Bruisten, S. M., Dierdorp, M., van Dam, A. P., & Templeton, K. (2006). Specific and sensitive diagnosis of syphilis using a real-time PCR for *Treponema pallidum*. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(12). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01566.x>
- Lee, K. H., Choi, H. J., Lee, M. G., & Lee, J. B. (2000). Virulent *Treponema pallidum* 47 kDa Antigen Regulates the Expression of Cell Adhesion Molecules and Binding of T-Lymphocytes to Cultured Human Dermal Microvascular Endothelial Cells. *Yonsei Medical Journal*, 41(5). <https://doi.org/10.3349/ymj.2000.41.5.623>
- Lin Kim, H., Wha Ha, A., & Kyoung Kim, W. (2020). Effect of saccharin on inflammation in 3T3-L1 adipocytes and the related mechanism. *Nutrition Research and Practice*, 14(2), 1976-1457. https://doi.org/10.4162/nrp.2020.14.2.109&domain=pdf&date_stamp=2020-04-01
- Liu, H., Rodes, B., Chen, C. Y., & Steiner, B. (2001). New tests for syphilis: Rational design of a PCR method for detection of *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA polymerase I gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(5). <https://doi.org/10.1128/JCM.39.5.1941-1946.2001>
- Lorenz, Z. W., Nijhar, S., Caulfield-Noll, C., Ghanem, K. G., & Hamill, M. M. (2023). The Utility of Biomarkers in the Clinical Management of Syphilis: A Systematic Review. In *Sexually Transmitted Diseases* (Vol. 50, Number 8). <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001813>
- Lukehart, S. A., Godornes, C., Molini, B. J., Sonnett, P., Hopkins, S., Mulcahy, F., Engelman, J., Mitchell, S. J., Rompalo, A. M., Marra, C. M., & Klausner, J. D. (2004). Macrolide Resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland. *New England Journal of Medicine*, 351(2). <https://doi.org/10.1056/nejmoa040216>
- Marks, M., Lawrence, D., Kositz, C., & Mabey, D. (2018). Diagnostic performance of PCR assays for the diagnosis of neurosyphilis: A systematic review. In *Sexually Transmitted Infections* (Vol. 94, Number 8). <https://doi.org/10.1136/sextrans-2018-053666>
- Mejía-Aguirre, B., Luna-Vargas, A. K., & Benítez-Arvizu, G. (2025). Seroprevalencia de agentes infecciosos en donadores de sangre y sus componentes. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 63(2). <http://doi.org/10.5281/zenodo.14616969>
- Newman, L., Rowley, J., Hoorn, S. Vander, Wijesooriya, N. S., Unemo, M., Low, N., Stevens, G., Gottlieb, S., Kiarie, J., & Temmerman, M. (2015). Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic

- Review and Global Reporting. In PLoS ONE (Vol. 10, Number 12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143304>
- Norgard, M. V., Chamberlain, N. R., Swancutt, M. A., & Goldberg, M. S. (1986). Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of *Treponema pallidum* in *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 54(2). <https://doi.org/10.1128/iai.54.2.500-506.1986>
- Organización Mundial de la Salud. (2023). Estadísticas globales. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)).
- Palmer, H. M., Higgins, S. P., Herring, A. J., & Kingston, M. A. (2003). Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. *Sexually Transmitted Infections*, 79(6). <https://doi.org/10.1136/sti.79.6.479>
- Peeling, R. W., Mabey, D., Chen, X. S., & Garcia, P. J. (2023). Syphilis. In *The Lancet* (Vol. 402, Number 10398). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02348-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02348-0)
- Peng, R. R., Wang, A. L., Li, J., Tucker, J. D., Yin, Y. P., & Chen, X. S. (2011). Molecular typing of *Treponema pallidum*: A systematic review and meta-analysis. In *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 5, Number 11). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001273>
- Pillay, A., Liu, H., Chen, C. Y., Holloway, B., Willem Sturm, A., Steiner, B., & Morse, S. A. (1998). Molecular subtyping of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*. *Sexually Transmitted Diseases*, 25(8). <https://doi.org/10.1097/00007435-199809000-00004>
- Pinilla, G., Cuervo, B., Martínez, N., Navas, J., & Mora, L. (2015). Determinación de los genes 16S ADNr, *poIA* y *TpN47* en la detección de *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita. *NOVA*, 17-25. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a02.pdf>
- Radolf, J. D., Chamberlain, N. R., Clausell, A., & Norgard, M. V. (1988). Identification and localization of integral membrane proteins of virulent *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* by phase partitioning with the nonionic detergent Triton X-114. *Infection and Immunity*, 56(2). <https://doi.org/10.1128/iai.56.2.490-498.1988>
- Refugio, O. N., & Klausner, J. D. (2018). Syphilis incidence in men who have sex with men with human immunodeficiency virus comorbidity and the importance of integrating sexually transmitted infection prevention into HIV care. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* (Vol. 16, Number 4). <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1446828>
- Rochel-Perez, E. A., Martin-Dorantes, M. A., & Mendez-Dominguez, N. (2024). Estimation of the Incidence of Congenital Syphilis in Mexico Between 2019 and 2023. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.63913>
- Rowley, J., Hoorn, S. Vander, Korenromp, E., Low, N., Unemo, M., Abu-Raddad, L. J., Chico, R. M., Smolak, A., Newman, L., Gottlieb, S., Thwin, S. S., Broutet, N., & Taylor, M. M. (2019). Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: Global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bulletin of the World Health Organization*, 97(8). <https://doi.org/10.2471/BLT.18.228486>
- Salazar, J. C., Vargas-Cely, F., García-Luna, J. A., Ramirez, L. G., Bettin, E. B., Romero-Rosas, N., Amórtégui, M. F., Silva, S., Oviedo, O., Vigil, J., La Vake, C. J., Galindo, X., Ramirez, J. D., Martínez-Valencia, A. J., Caimano, M. J., Hennelly, C. M., Aghakhanian, F., Anthony Moody, M., Seña, A. C., ... Redoll, J. D. (2024). *Treponema pallidum* genetic diversity and its implications for targeted vaccine development: A cross-sectional study of early syphilis cases in Southwestern Colombia. *PLoS ONE*, 19(7 July). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307600>
- Satyaputra, F., Hendry, S., Braddick, M., Sivabalan, P., & Norton, R. (2021). The Laboratory Diagnosis of Syphilis. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 59, Number 10). <https://doi.org/10.1128/JCM.00100-21>
- Secretaría de Salud. (2015). Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA2-2014, para la prevención y control de las infecciones de transmisión sexual. México: Secretaría de Salud; 2015. <https://www.dof.gob.mx>
- Shields, M., Guy, R. J., Jeffreys, N. J., Finlayson, R. J., & Donovan, B. (2012). A longitudinal evaluation of *Treponema pallidum* PCR testing in early syphilis. *BMC Infectious Diseases*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-353>
- Soreng, K., Levy, R., & Fakile, Y. (2014). Serologic testing for syphilis: Benefits and challenges of a reverse algorithm. *Clinical Microbiology Newsletter*, 36(24). <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2014.12.001>

- Stamm, L. V. (2010). Global challenge of antibiotic-resistant *Treponema pallidum*. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Vol. 54, Number 2). <https://doi.org/10.1128/AAC.01095-09>
- Stoltey, J. E., & Cohen, S. E. (2015). Syphilis transmission: A review of the current evidence. In *Sexual Health* (Vol. 12, Number 2). <https://doi.org/10.1071/SH14174>
- Theel, E. S., Katz, S. S., & Pillay, A. (2020). Molecular and Direct Detection Tests for *Treponema pallidum* Subspecies *pallidum*: A Review of the Literature, 1964-2017. *Clinical Infectious Diseases*, 71. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa176>
- Treger, R. S., Menza, T. W., Truong, T. T., & Lieberman, J. A. (2025). Advances in Syphilis Diagnostics to Address the 21st-Century Epidemic. In *Clinical Chemistry* (Vol. 71, Number 9). <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaf072>
- Tsuboi, M., Evans, J., Davies, E. P., Rowley, J., Korenromp, E. L., Clayton, T., Taylor, M. M., Mabey, D., & Chico, R. M. (2021). Prevalence of syphilis among men who have sex with men: a global systematic review and meta-analysis from 2000-20. *The Lancet Global Health*, 9(8). [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(21\)00221-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(21)00221-7)
- Unemo, M., Bradshaw, C. S., Hocking, J. S., de Vries, H. J. C., Francis, S. C., Mabey, D., Marrazzo, J. M., Sonder, G. J. B., Schwebke, J. R., Hoornenborg, E., Peeling, R. W., Philip, S. S., Low, N., & Fairley, C. K. (2017). Sexually transmitted infections: challenges ahead. In *The Lancet Infectious Diseases* (Vol. 17, Number 8). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30310-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30310-9)
- Yokota, M., Tatsumi, N., Nathalang, O., Yamada, T., & Tsuda, I. (1999). Effects of heparin on polymerase chain reaction for blood white cells. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 13(3). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2825\(1999\)13:3<133::AID-JCLA8>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2825(1999)13:3<133::AID-JCLA8>3.0.CO;2-0)

Identificación inmunoquímica de proteínas inmunogénicas de *Porphyromonas gingivalis*

Immunochemical Identification of Immunogenic Proteins from *Porphyromonas gingivalis*

Beltrán-López, E.¹ , Tiznado-Parra, N.N.¹ , Luque-Ortega, F.² , Arámbula-Meraz, E.¹ , Pineda-Hidalgo, K.³ , Vega-Castillo, U.¹ , López-Moreno, H.S.^{1*} .

¹Posgrado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80010

²Laboratorio Ciencias Básicas, Facultad de Odontología, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80010

³Laboratorio Genética y Bioquímica de Plantas, Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80010

RESUMEN

Porphyromonas gingivalis es un patógeno estrechamente asociado a la periodontitis crónica, cuyas proteínas inmunogénicas desempeñan funciones esenciales en la interacción hospedero-patógeno y constituyen candidatos para el desarrollo de herramientas diagnósticas e inmunoterapéuticas. El objetivo de este estudio fue identificar proteínas inmunogénicas de *Porphyromonas gingivalis* mediante un análisis inmunoquímico utilizando sueros de ratones BALB/c inmunizados con un extracto proteico bacteriano (ECPg). El ECPg se preparó a partir de cultivos bacterianos (cepa ATCC 33277) y se empleó como antígeno en un esquema de inmunización intraperitoneal. La respuesta humoral se confirmó mediante ELISA. Posteriormente, el perfil proteico del extracto se evaluó mediante electroforesis SDS-PAGE al 12 %, mientras que las proteínas inmunogénicas se detectaron mediante *Western blot* utilizando los sueros inmunes. El ECPg presentó quince bandas proteicas, de las cuales siete (28, 33, 40, 54, 62, 72 y 104 kDa) fueron reconocidas por anticuerpos IgG específicos. La proteína de 62 kDa (p62) mostró la mayor inmunoreactividad, lo que sugiere que constituye el inmunógeno dominante del extracto. El análisis *in silico* permitió asignar la identidad putativa de seis proteínas, correspondientes a Omp28, fimbria Mfa5, Omp40, fimbria Mfa1, fosfotransacetilasa y gingipaina K, mientras que p62 permaneció sin identificación. Estos resultados demuestran que el ECPg contiene múltiples antígenos capaces de evocar una respuesta humoral específica y amplían el conocimiento del repertorio antigénico de *Porphyromonas gingivalis*, proporcionando una base para la caracterización estructural, funcional e inmunológica futura, en especial de p62.

Palabras clave: *Porphyromonas gingivalis*, Periodontitis, Antígenos, Bacteria, Western blot, Inmunoglobulina G

ABSTRACT

Porphyromonas gingivalis is a major periodontal pathogen whose immunogenic proteins play essential roles in host-pathogen interactions and represent promising targets for the development of diagnostic and immunotherapeutic strategies. This study aimed to identify immunogenic proteins of *Porphyromonas gingivalis* through an immunochemical analysis using sera from BALB/c mice immunized with a bacterial crude protein extract (ECPg). The ECPg was prepared from bacterial cultures (strain ATCC 33277) and used as an antigen in an intraperitoneal immunization protocol. The humoral immune response was confirmed by ELISA. Protein composition was analyzed by 12 % SDS-PAGE, whereas immunoreactive proteins were detected by *Western blot* using immune mouse sera. Fifteen protein bands were identified in the ECPg, of which seven (28, 33, 40, 54, 62, 72, and 104 kDa) were recognized by specific IgG antibodies. The 62-kDa protein (p62) exhibited the strongest immunoreactivity, suggesting that it represents the dominant immunogen within the extract. *In silico* analysis enabled the putative identification of six immunoreactive proteins as Omp28, Mfa5 fimbrial protein, Omp40, Mfa1 fimbrial protein, phosphotransacetylase, and K gingipain, whereas p62 remained unidentified. These findings demonstrate that the ECPg contains multiple antigens capable of eliciting a specific humoral immune response. Although protein identities remain putative and rely on bioinformatic correlation, this study expands the current knowledge of the antigenic repertoire of *Porphyromonas gingivalis* and provides a foundation for future structural, functional, and immunological characterization, particularly of the highly immunoreactive p62 protein.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, Periodontitis, Antigens, Bacterium, Western Blotting, Immunoglobulin G

INTRODUCCIÓN

Porphyromonas gingivalis es un patógeno anaerobio Gram negativo asociado a la patogénesis de la periodontitis crónica, una enfermedad periodontal inflamatoria que se caracteriza por la afectación de los tejidos de soporte del órgano dental, cuya prevalencia global se estima entre el 20 % y el 50 % de la población adulta (Nazir et al., 2020; Oliva et al., 2022). Esta patología puede progresar desde formas leves caracterizadas por gingivitis reversible, hasta estados avanzados que implican la destrucción del ligamento periodontal, pérdida ósea alveolar y eventual pérdida dentaria (Sanchez et al., 2022). Además de sus manifestaciones locales, la periodontitis ha sido vinculada con diversas manifestaciones sistémicas, como enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus y trastornos neurodegenerativos, lo que resalta la importancia clínica de *Porphyromonas gingivalis* y su impacto en la salud pública (Messina et al., 2025).

La capacidad de *Porphyromonas gingivalis* para colonizar y persistir en el hospedero se atribuye a la expresión de múltiples factores de virulencia, entre los que destacan proteínas de superficie y componentes extracelulares implicados en procesos de adhesión, invasión y evasión de la respuesta inmune (Xu et al., 2020; Lunar & Cascales, 2021). Estas proteínas pueden ser reconocidas por el sistema inmune, evocando la respuesta humoral específica mediada por linfocitos B y la producción de inmunoglobulinas, particularmente del isotipo IgG (Lunar & Cascales, 2021). En este escenario, la identificación de proteínas inmunogénicas constituye una estrategia relevante para comprender los mecanismos de interacción hospedero-patógeno, así como la identificación de blancos con potencial aplicación en el diagnóstico o en el desarrollo de estrategias terapéuticas. Diversos estudios han demostrado que pacientes con enfermedad periodontal desarrollan anticuerpos circulantes dirigidos contra proteínas específicas de este microorganismo, lo que refleja una interacción dinámica entre la respuesta inmune adaptativa y los factores de virulencia bacterianos (Chen et al., 1991; Franca et al., 2007). En este escenario, la identificación de proteínas reconocidas por anticuerpos constituye una aproximación útil para comprender los mecanismos de reconocimiento inmunológico que ocurren durante la infección, así como para seleccionar candidatos susceptibles de emplearse en el desarrollo de herramientas diagnósticas o de intervención biotecnológica.

A pesar de los avances en la caracterización genómica de *Porphyromonas gingivalis*, una proporción considerable permanece pobremente caracterizada o carece de asignación funcional definida (Reyes, 2021). En este contexto, el análisis inmunoquímico de extractos proteicos

bacterianos representa una aproximación biomédica útil para identificar proteínas inmunogénicas capaces de evocar una respuesta inmune adaptativa. La integración del análisis *in silico* con la inmunoquímica, permite proponer la identidad putativa de dichas proteínas como un primer acercamiento hacia la caracterización estructural y funcional.

En este estudio, se empleó un modelo murino con ratones de la cepa BALB/c inmunizando con un extracto proteico de *Porphyromonas gingivalis* (ECPg) con el objetivo de identificar proteínas inmunogénicas reconocidas por anticuerpos IgG mediante técnicas inmunoquímicas, como ELISA y *Western blot*. Adicionalmente, se realizó un análisis *in silico* para proponer la identidad putativa de las proteínas inmunogénicas detectadas, estableciendo así una base para el desarrollo de futuros estudios dirigidos a su caracterización bioquímica y funcional.

MATERIALES Y MÉTODOS

CEPA BACTERIANA Y CONDICIONES DE CULTIVO

Se empleó la cepa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, la cual se cultivó en medio *Brain Heart Infusion* (BHI) (Sigma-Aldrich, EE. UU.) suplementado con hemina (5 µg/mL) (Sigma-Aldrich, EE. UU.), vitamina K (1 µg/mL) (Sigma-Aldrich, EE. UU.), y L-Cisteína (500 mg/mL) (Sigma-Aldrich, EE. UU.). Los cultivos se incubaron a 37 °C bajo condiciones estrictas de anaerobiosis, conforme a las recomendaciones del proveedor y a procedimientos previamente descritos (Siemińska et al., 2021).

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratones BALB/c hembra de 6–8 semanas de edad, mantenidos bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y ciclo luz-oscuridad, con acceso *ad libitum* a agua potable y alimento comercial estandarizado para roedores de laboratorio Nutricubos® (Purina, México). Los animales fueron alimentados con *pellets* formulados específicamente para roedores de laboratorio, cuya composición proximal fue: proteína 23 %, grasa 3 %, fibra 6 %, humedad 12 %, cenizas 7 %, calcio 1 %, fósforo 0.60 % y extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) 49 %. Esta formulación está diseñada para satisfacer los requerimientos nutricionales durante todas las etapas del ciclo de vida de los roedores y contribuir a la reducción de la variabilidad biológica en estudios experimentales de largo plazo. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de conformidad con las normas institucionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio y

fueron aprobados por el Comité de Ética correspondiente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO DE *P. GINGIVALIS*

La biomasa bacteriana obtenida de cultivos en fase exponencial fue recuperada mediante centrifugación a $5\,000 \times g$ durante 20 min a 4 °C. El *pellet* celular se resuspendió en una variante del amortiguador de rehidratación (BHR) sin anfolitos, compuesto por urea 8 M, 3-[(3-colamidopropil)dimetilamonio]-1-propanosulfonato (CHAPS) al 2 %, ditiotreitól (DTT) 50 mM y un cóctel comercial de inhibidores de proteasas *cOmplete* (Sigma-Aldrich, EE. UU.), sin ajuste de pH, conforme a las recomendaciones para el enfoque isoelectrico en gradientes de pH inmobilizados, siguiendo el procedimiento descrito por Piedra-Quintero et al. (2015), con modificaciones menores. La suspensión bacteriana se incubó durante 1 h a 4 °C y posteriormente fue sometida a disrupción celular mediante un sonicador Ultrasonic Homogenizer 4710 (Cole Palmer, EE. UU.) configurado a una potencia de salida de 50 W y frecuencia de operación de 20 kHz, utilizando tres ciclos de 30 s con intervalos de 30 s, manteniendo la muestra en hielo durante todo el procedimiento. El lisado obtenido se centrifugó a $13\,000 \times g$ durante 10 min y el sobrenadante fue recuperado para precipitación proteica mediante la adición de ocho volúmenes de acetona (Sigma-Aldrich, EE. UU.) fría, incubándose posteriormente a -20 °C durante 12 h. El precipitado proteico se recuperó por centrifugación a $13\,000 \times g$ durante 10 min y se lavó cinco veces con 1 mL de metanol (JT Baker, EE. UU.) frío, eliminando completamente el disolvente entre cada lavado. Finalmente, las proteínas fueron secadas en un termobloque (Joanlab, China), resuspendidas en BHR e incubadas a 4 °C durante 48 h para favorecer su completa solubilización. La concentración proteica se determinó mediante el micrométodo de Bradford empleando un reactivo comercial (Sigma-Aldrich, EE. UU.), en microplacas de poliestireno con fondo plano, tipo ELISA (Thermo-Fisher Scientific, EE. UU.). La absorbancia se registró a 550 nm empleando un lector de microplacas Sinergy HTX (Biotek, EE. UU.) (Piedra-Quintero et al., 2015; Villa-Medina et al., 2025).

ANTICUERPOS ANTI-ECPg

Los ratones fueron inmunizados por vía intraperitoneal con 50 µg de extracto proteico de *Porphyromonas gingivalis* (ECPg) por dosis, siguiendo un esquema de tres inmunizaciones separadas por intervalos de diez días (día 0, día 10, día 20) (López-Moreno et al., 2003). La primera dosis se emulsificó 1:1 con adyuvante completo de Freund (Sigma-Aldrich, EE. UU.),

mientras que las dos inmunizaciones posteriores se prepararon individualmente con adyuvante incompleto de Freund (Sigma-Aldrich, EE. UU.). Se obtuvieron muestras sanguíneas antes de la primera inmunización y siete días después del último refuerzo. Para ello, los animales fueron sujetos manualmente y la cola se calentó 5 minutos con una lámpara infrarroja de escritorio con bombillo de 100 W (Philips, EE. UU.) para favorecer la vasodilatación. Se efectuó una punción de la vena caudal, con una aguja estéril 25 G (BD, EE. UU.), recolectando por goteo en un tubo cónico estéril tipo Eppendorf de 1.5 mL (Axygen, EE. UU.), aproximadamente 200 µL de sangre. Posteriormente, se aplicó presión suave con gasa estéril en el sitio de la punción, hasta detener el sangrado. Este procedimiento se realizó siguiendo las guías de buenas prácticas para la obtención de sangre en roedores (Diehl et al., 2001). La sangre se dejó coagular a temperatura ambiente y posteriormente fue centrifugada para recuperar el suero, el cual se almacenó a -20 °C hasta su utilización (López-Moreno et al., 2003).

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS MEDIANTE ELISA

La producción de anticuerpos IgG específicos contra el ECPg fue determinada mediante un ensayo inmunoenzimático indirecto (ELISA), siguiendo el procedimiento descrito previamente por López-Moreno et al. (2003). Brevemente, placas de alta afinidad para proteínas (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) fueron sensibilizadas con ECPg (50 µg/mL) preparado en amortiguador de carbonatos (pH 9.5). Después del bloqueo con leche descremada (Nestlé, EE. UU.) al 5 % preparada en amortiguador salino de fosfatos (PBS o PBST por sus siglas en inglés), a pH 7.2, suplementado con Tween 20 Sigma-Aldrich, EE. UU. al 0.1 %. Las placas se incubaron con diluciones seriadas de los sueros preinmunes e inmunes. La detección se realizó utilizando un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (BioLegend, EE. UU.) (diluido 1:4000 en PBST) y *o*-fenilendiamina (1 mg/mL) (Sigma-Aldrich, EE. UU.) como sustrato cromogénico, disuelta en amortiguador de citratos pH 5.6 suplementado con H₂O₂. La reacción se detuvo con H₂SO₄ (JT Baker, EE. UU.) 1 M y la absorbancia se registró a 490 nm empleando un lector de microplacas Sinergy HTX (Biotek, EE. UU.) (López-Moreno et al., 2003).

OBTENCIÓN DEL PERFIL PROTEICO DE ECPg

El perfil proteico del ECPg se evaluó mediante electroforesis SDS-PAGE al 12 % de acuerdo con el método descrito originalmente por Laemmli y adaptado previamente por González et al. (2024). Se cargaron 5 y 10 µg de

proteína por carril y la separación electroforética se efectuó a 100 V durante 90 min. Los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie G-250 (Bio-Rad, EE. UU.) y posteriormente desteñidos con una solución de metanol 40 %, ácido acético glacial 10 % y agua desionizada 50 % (ambos reactivos fueron de la marca JT Baker, EE. UU.). La estimación del peso molecular se realizó empleando un marcador comercial preteñido *Dual-color* (Bio-Rad, EE. UU.) y el software PDQuest (Bio-Rad, EE. UU.) (González et al., 2024).

IDENTIFICACIÓN INMUNOQUÍMICA MEDIANTE WESTERN BLOT

Las proteínas separadas por SDS-PAGE fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa de 0.22 µm (GE Healthcare, EE. UU.) mediante transferencia húmeda utilizando amortiguador de Towbin (Bio-Rad, EE. UU.). Posteriormente, las membranas fueron bloqueadas con leche descremada (Nestlé, EE. UU.) al 5 % preparada en PBST y cortadas en tiras individuales de 3 mm aproximadamente. Cada tira fue incubada independientemente con sueros preinmunes o inmunes diluidos 1:100, incluyendo controles negativos consistentes en membranas incubadas únicamente con PBST o en ausencia de anticuerpo primario. La detección de los inmunocomplejos se realizó utilizando el mismo anticuerpo secundario anti-IgG-HRP empleado en ELISA y diaminobencidina (DAB, Research Organics, EE. UU.) como sustrato cromogénico (Villa-Medina et al., 2025).

IDENTIFICACIÓN PUTATIVA DE PROTEÍNAS INMUNOGÉNICAS

Los pesos moleculares estimados para las bandas inmunorreactivas fueron comparados con la información disponible en las bases de datos *Protein Data Bank* (PDB), UniProt y *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), con el propósito de proponer la identidad putativa de las proteínas reconocidas inmunológicamente.

PREDICCIÓN DE LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL MEDIANTE ALPHAFOLD

Para aquellas proteínas cuya estructura experimental no se encontraba disponible en el *Protein Data Bank* (PDB), se recuperaron las secuencias de aminoácidos en formato FASTA desde la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) y se emplearon para la predicción estructural utilizando la plataforma AlphaFold 3 (Abramson et al., 2024). Este algoritmo emplea un modelo de inteligencia artificial basado en aprendizaje profundo que integra información derivada de la secuencia primaria, alineamientos múltiples de secuencias (MSA), búsqueda de estructuras

homólogas, representaciones de pares de residuos (*Pairformer*) y un módulo generativo basado en difusión (*Diffusion Module*), permitiendo generar modelos tridimensionales a resolución atómica mediante procesos iterativos de refinamiento (*recycling*). (Abramson et al., 2024). La calidad de los modelos obtenidos fue evaluada mediante los parámetros de confianza proporcionados automáticamente por el servidor. La confiabilidad local de cada residuo se estimó utilizando el *Predicted Local Distance Difference Test* (pLDDT), considerando valores >90 como predicciones de muy alta confianza, entre 70 y 90 como modelos confiables, entre 50 y 70 como regiones de baja confianza y valores <50 como regiones probablemente desordenadas o estructuralmente inciertas. Asimismo, se examinó el *Predicted Aligned Error* (PAE) para evaluar la confianza relativa entre diferentes regiones estructurales y el *Predicted Template Modeling score* (pTM) como indicador de la confiabilidad global del plegamiento proteico. Los modelos obtenidos fueron empleados para apoyar la interpretación estructural y funcional de las proteínas inmunogénicas identificadas de manera putativa.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos en el ensayo ELISA fueron expresados como la media $\pm$ desviación estándar (DE) de tres ratones BALB/c. La respuesta humoral específica contra el ECPg fue evaluada mediante un análisis de varianza de dos vías con medidas repetidas, considerando como variables independientes el estado inmunológico (preinmune e inmune) y la dilución sérica. La corrección de Geisser-Greenhouse fue aplicada cuando no se asumió esfericidad. Posteriormente, las diferencias entre medias fueron evaluadas mediante la prueba de comparaciones múltiples de Sidak. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa GraphPad Prism versión 8.0 (GraphPad Software, EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS INMUNOGÉNICAS DE *P. gingivalis*

El análisis electroforético mediante SDS-PAGE al 12 % permitió identificar quince bandas proteicas en el extracto proteico crudo de *Porphyromonas gingivalis* (ECPg), distribuidas en un rango aproximado de 12 a 150 kDa (Figura 1A). La presencia de múltiples componentes proteicos evidencia la complejidad del repertorio molecular presente en esta bacteria y concuerda con el hecho de que *Porphyromonas gingivalis* expresa una amplia

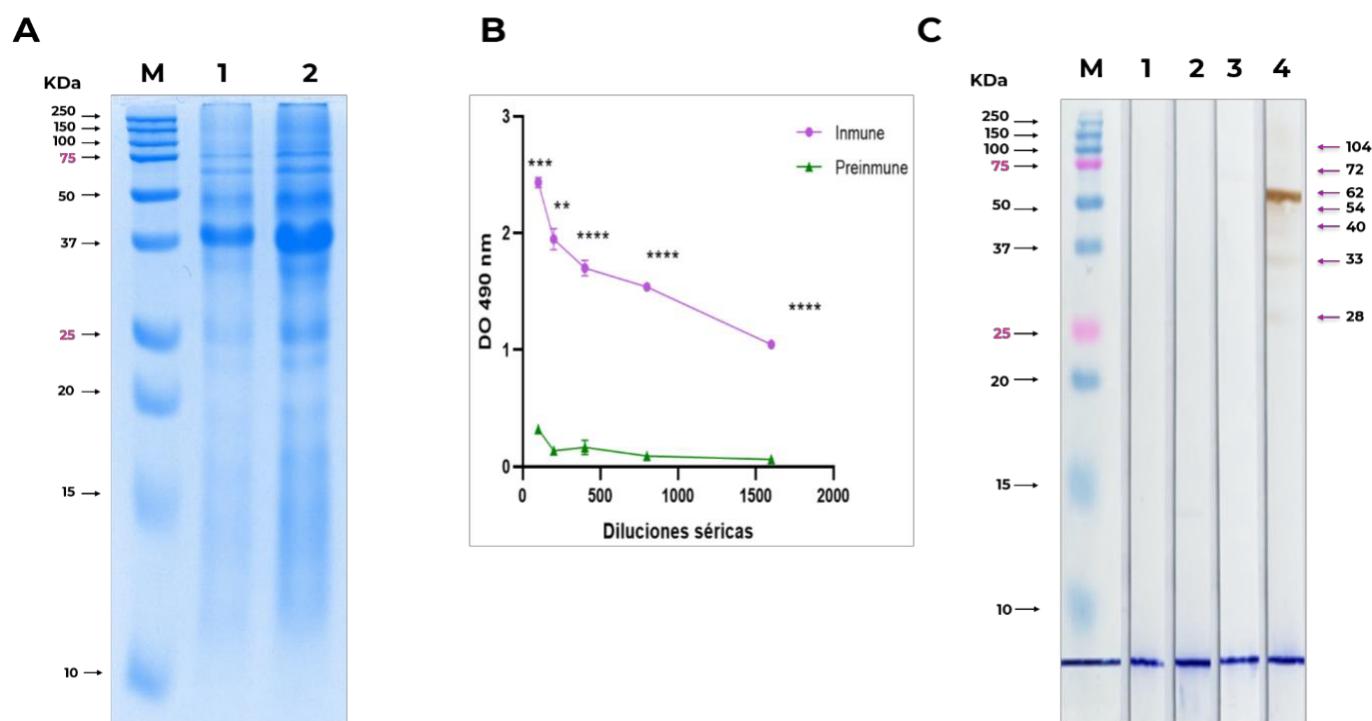


Figura 1. Inmunoquímica de *Porphyromonas gingivalis*. A. Perfil proteico con 15 bandas presentes en el carril 2 de la muestra con 10 µg del ECPg de 12 a 150 kDa, carril 1, 5 mg del ECPg. B. ELISA de IgG anti-ECPg, los datos corresponden a la media ± SD de tres ratones BALB/c. Las diferencias entre sueros preinmunes e inmunes fueron evaluadas mediante ANOVA de dos vías con medidas repetidas seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Sidak (** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$). C. Western blot de IgG anti-ECPg. Detección de 7 bandas inmunogénicas del ECPg (28, 33, 40, 54, 62, 72 y 104 kDa), siendo la más prominente p62, dilución de los sueros 1:100. Resultado representativo de 3 experimentos independientes.

diversidad de proteínas estructurales, metabólicas y asociadas a virulencia que participan en la colonización del hospedero y en la progresión de la enfermedad periodontal (Mysak et al., 2014; Xu et al., 2020). La heterogeneidad observada en el perfil proteico es consistente con estudios previos realizados en extractos bacterianos completos de *Porphyromonas gingivalis*, donde se ha documentado la presencia simultánea de proteínas de membrana externa, fimbrias, proteasas y enzimas metabólicas con capacidad para interactuar con el sistema inmune del hospedero (Franca et al., 2007; Hirai et al., 2020). Debido a que el extracto utilizado corresponde a una preparación proteica compleja obtenida a partir de cultivos completos, era esperable detectar un número elevado de bandas proteicas distribuidas en diferentes rangos de peso molecular.

La inmunización de ratones BALB/c con el extracto proteico de *Porphyromonas gingivalis* (ECPg) indujo una respuesta humoral específica de tipo IgG, la cual fue evaluada mediante ELISA indirecto empleando diluciones seriadas de los sueros obtenidos antes y después del esquema

de inmunización (Figura 1B). En todas las diluciones analizadas, los sueros inmunes presentaron valores de densidad óptica significativamente superiores a los observados en los sueros preinmunes, evidenciando el reconocimiento específico de los antígenos presentes en el ECPg. El análisis estadístico mediante ANOVA de dos vías con medidas repetidas mostró un efecto significativo tanto del estado inmunológico (preimmune versus immune) como de la dilución sérica, así como una interacción significativa entre ambos factores (Interacción: $F(4,16)=287.4$, $p < 0.0001$; condición inmunológica: $F(1,4)=2824$, $p < 0.0001$; dilución sérica: $F(2,077,8.309)=591.6$, $p < 0.0001$). Estos resultados indican que la magnitud de la respuesta humoral dependió simultáneamente de la inmunización y de la dilución evaluada.

Las comparaciones múltiples de Sidak confirmaron diferencias significativas entre los sueros preinmunes e inmunes en todas las diluciones estudiadas. Las mayores diferencias se observaron en las diluciones más bajas, donde los sueros inmunes alcanzaron valores

promedio de densidad óptica entre 2.434 y 1.948 unidades, mientras que los sueros preinmunes mostraron valores entre 0.321 y 0.135 unidades. Aun en las diluciones más altas evaluadas, las diferencias continuaron siendo estadísticamente significativas ($p < 0.0001$), demostrando la persistencia de anticuerpos específicos circulantes contra los antígenos del ECPg. Desde una perspectiva biológica, el patrón observado es consistente con una respuesta humoral secundaria caracterizada por la expansión clonal de linfocitos B específicos y la producción de anticuerpos IgG de alta afinidad. La disminución progresiva de la señal conforme aumentó la dilución sérica refleja un comportamiento dependiente de la concentración de anticuerpos, mientras que la conservación de diferencias significativas entre los grupos inmunes y preinmunes en todo el rango de diluciones confirma que la inmunización fue capaz de inducir una respuesta adaptativa prominente contra proteínas de *Porphyromonas gingivalis*. Resultados similares han sido reportados para antígenos de esta bacteria tanto en modelos experimentales como en individuos expuestos a infección periodontal (Chen et al., 1991; Franca et al., 2007). En este sentido, los resultados obtenidos respaldan la capacidad inmunogénica del extracto proteico empleado y validan el uso de los sueros generados para la identificación posterior de proteínas inmunorreactivas mediante *Western blot*. La prominente magnitud de la respuesta humoral observada después del esquema de inmunización sugiere que el ECPg contiene múltiples determinantes antigénicos capaces de evocar clones específicas de linfocitos B y promover su diferenciación a células plasmáticas productoras de IgG, observable en respuestas inmunes secundarias o de memoria (Cancro & Tomayko, 2021). La persistencia de diferencias significativas entre los grupos preinmune e inmune incluso en las mayores diluciones evaluadas indica que la inmunización generó anticuerpos con una alta afinidad y concentración suficientes para mantener el reconocimiento antigénico bajo las condiciones de alta dilución sérica evaluada. Este comportamiento ha sido descrito previamente para proteínas inmunogénicas de *Porphyromonas gingivalis*, las cuales evocan potentes respuestas humorales, tanto en modelos experimentales como en personas expuestas a enfermedad periodontal crónica (Chen et al., 1991; Franca et al., 2007). Adicionalmente, la diferencia observada entre los sueros preinmunes e inmunes confirma que las señales detectadas posteriormente en las membranas inmunorreveladas corresponden a un reconocimiento específico inducido por la inmunización y no a reactividad basal preexistente.

La respuesta humoral observada en los animales inmunizados también sugiere que los antígenos presentes en el ECPg poseen una elevada capacidad para ser procesados y presentados por células presentadoras de antígeno, promoviendo el desarrollo de mecanismos dependientes de linfocitos T cooperadores y promoviendo la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas secretoras de IgG. La magnitud de la señal detectada mediante ELISA indica que la inmunización generó una respuesta sostenida contra diversos componentes presentes en el extracto bacteriano, fenómeno que resulta congruente con la complejidad proteica observada posteriormente mediante *SDS-PAGE* y *Western blot*.

El análisis por *Western blot* reveló la existencia de siete proteínas inmunorreactivas con pesos moleculares aproximados de 28, 33, 40, 54, 62, 72 y 104 kDa (Figura 1C, Tabla 1), indicando que únicamente una fracción del repertorio proteico presente en el ECPg fue reconocida por los anticuerpos IgG inducidos durante la inmunización. La detección de múltiples proteínas inmunorreactivas coincide con observaciones previas realizadas en pacientes con periodontitis crónica y en modelos experimentales, donde se ha demostrado que la respuesta humoral frente a *Porphyromonas gingivalis* está dirigida contra diversos antígenos bacterianos simultáneamente (Chen et al., 1991; Franca et al., 2007). Este comportamiento sugiere que la inmunogenicidad de la bacteria no depende de un único determinante antigénico, sino de un conjunto heterogéneo de proteínas capaces de inducir reconocimiento inmunológico. La identificación de siete proteínas inmunorreactivas indica que la respuesta humoral evocada por el ECPg no se restringe a un solo antígeno dominante, sino que involucra el reconocimiento simultáneo de múltiples proteínas bacterianas.

Desde una perspectiva biomédica, la detección simultánea de siete proteínas inmunorreactivas pone de manifiesto que el reconocimiento del ECPg por anticuerpos IgG ocurre contra múltiples blancos moleculares. Este hallazgo coincide con la naturaleza multifactorial de la virulencia de *Porphyromonas gingivalis*, donde distintas proteínas participan de manera coordinada en procesos de adhesión, invasión tisular, obtención de nutrientes y evasión de mecanismos inmunitarios del hospedero. Esta diversidad antigénica también explica por qué la respuesta adaptativa humoral evocada contra esta bacteria también suele ser policlonal y dirigida hacia diversos determinantes antigénicos expresados durante el crecimiento bacteriano en individuos con enfermedad periodontal (Mysak et al., 2014; Xu et al., 2020).

Entre las bandas detectadas, la proteína de 62 kDa (p62) presentó de manera consistente la señal de mayor intensidad. Si bien la intensidad de una banda

Tabla 1. Identidad putativa y función de las proteínas inmunogénicas de *Porphyromonas gingivalis* detectadas en el presente estudio e identificadas empleando bases de datos bioinformáticas.

Banda	Peso molecular (kDa)		PDB*	Proteína	Función
	Experimental	Teórico			
1	104	104.81	6I9A	Gingipaina K	Hidrolasa
2	72	72.3	6IOW	Fosfotransacetilasa	Transferasa
3	62	-	-	Antígeno inmunorreactivo	Desconocida
4	54	54.4	5NF2	Fimbria Mfa1	Adhesión celular
5	40	40	-	Omp40 (PG33)	Membrana externa
6	33	33.03	6TNJ	Fimbria tipo V Mfa5	Adhesión celular
7	28	28	2R2C	Omp28	Lipoproteína de Membrana externa

*PDB (Protein Data Bank)

inmunorreactiva no constituye una medida directa de inmunogenicidad absoluta, sí refleja un mayor reconocimiento relativo por los anticuerpos presentes en los sueros analizados bajo las condiciones experimentales utilizadas. Este resultado sugiere que p62 podría corresponder a un antígeno inmunodominante dentro del repertorio proteico evaluado, lo que lo convierte en un candidato de interés para investigaciones posteriores. La relevancia de p62 radica no solamente en la intensidad del reconocimiento observado, sino también en la ausencia de una asignación clara de su identidad bioquímica, en las bases de datos consultadas. Este hallazgo es particularmente interesante debido a que estudios genómicos recientes han señalado que una porción importante de los genes codificados por *Porphyromonas gingivalis* permanece insuficientemente caracterizada (Reyes, 2021). En consecuencia, no puede descartarse que p62 corresponda a una proteína descrita previamente, cuyo comportamiento electroforético difiera de lo observado bajo las condiciones experimentales desarrolladas aquí, o bien puede tratarse de un antígeno poco estudiado, pero con una participación relevante en la interacción hospedero-patógeno. La intensa inmunoreactividad observada justifica su consideración como un candidato prioritario para investigaciones futuras orientadas a determinar su identidad molecular y su relevancia biomédica.

IDENTIFICACIÓN PUTATIVA DE LOS INMUNÓGENOS

La comparación de los pesos moleculares experimentales con registros disponibles en las bases de datos Protein Data Bank (PDB), UniProt y NCBI Protein permitió proponer una identidad putativa para varias de las proteínas inmunorreactivas detectadas. De acuerdo con este análisis, las bandas de aproximadamente 33, 54 y 72 kDa podrían corresponder a la fimbria tipo V Mfa5, la fimbria Mfa1 y la fosfotransacetilasa, respectivamente (Hall et al., 2018; Yoshida et al., 2019; Heidler et al., 2021). Adicionalmente, otras bandas mostraron correspondencia con proteínas previamente descritas en *Porphyromonas gingivalis*, incluyendo Omp28, Omp40 y Gingipaina K (Hiratsuka et al., 1992; Slakeski et al., 2002; Guevara et al., 2019).

Las proteínas propuestas poseen funciones biológicas compatibles con mecanismos relevantes para la virulencia bacteriana (Lunar & Cascales, 2021). La presencia de proteínas relacionadas con la adhesión, como las fimbrias Mfa1 y Mfa5, resulta particularmente relevante debido a que la adherencia al biofilm subgingival constituye uno de los primeros eventos en el establecimiento de la colonización e infección periodontal (Hall et al., 2018). Asimismo, la detección de la Gingipaina K como inmunógeno, es consistente con la participación central que estas proteasas tienen en la

degradación de proteínas del hospedero, obtención de nutrientes y modulación de la respuesta inmune (Hirai et al., 2020; Nobre dos Santos-Lima et al., 2020; Lunar & Cascales, 2021). Por otra parte, la identificación putativa de la fosfotransacetilasa sugiere que estas proteínas metabólicas intracelulares también podrían participar como inmunógenos cuando son liberadas durante procesos de crecimiento, lisis bacteriana o liberación de vesículas de membrana externa, fenómeno descrito previamente en bacterias Gram negativas (Yoshida et al., 2019; Xu et al., 2020; Lunar & Cascales, 2021).

La concordancia observada entre los pesos moleculares experimentales y los valores reportados para proteínas previamente caracterizadas en *Porphyromonas gingivalis* proporciona una aproximación inicial para interpretar la naturaleza biológica de los inmunógenos detectados. Aunque el peso molecular por sí solo no constituye una prueba definitiva de identidad proteica, este criterio ha sido utilizado históricamente como una herramienta preliminar para orientar estudios posteriores de caracterización molecular (Mann et al., 2001). Por ello, es importante señalar que la asignación realizada en este estudio debe considerarse estrictamente como una identificación putativa. El criterio utilizado se fundamenta en la correlación entre el peso molecular experimental y la información disponible en bases de datos bioinformáticas, por lo que no constituye una identificación proteómica definitiva. Consecuentemente, la identidad de estas proteínas deberá ser confirmada mediante metodologías complementarias en estudios futuros.

Particularmente relevante resulta la proteína p62, para la cual no fue posible establecer una correspondencia confiable con proteínas previamente caracterizadas mediante las estrategias de identificación empleadas. Esta limitación, lejos de disminuir su importancia, incrementa el interés biológico de este inmunógeno, ya que su caracterización podría aportar información valiosa acerca de componentes antigénicos de *Porphyromonas gingivalis* que aún no han sido descritos o que permanecen insuficientemente estudiados dentro del proteoma de este microorganismo (Reyes, 2021). Considerando que una proporción importante de las proteínas expresadas por *Porphyromonas gingivalis* continúa sin una caracterización funcional completa, la ausencia de una identificación concluyente para p62 pone de manifiesto la necesidad de profundizar en su análisis mediante estrategias proteómicas y genómicas complementarias que permitan establecer con precisión su identidad molecular, localización subcelular y posible participación en los procesos de virulencia y adaptación bacteriana.

Un aspecto particularmente significativo es que p62 constituyó el inmunógeno que presentó la mayor intensidad de reconocimiento en los ensayos inmunológicos realizados, lo que sugiere que corresponde a una proteína altamente inmunogénica y consistentemente reconocida por la respuesta humoral del hospedero. La magnitud de esta reactividad indica que dicho antígeno podría desempeñar un papel relevante durante el establecimiento o la persistencia de la infección periodontal, ya sea por su elevada expresión durante determinadas etapas del proceso infeccioso, por su accesibilidad al sistema inmunológico o por la presencia de epítomos con alta capacidad para inducir el reconocimiento por anticuerpos específicos. En este contexto, la elevada inmunogenicidad observada respalda la hipótesis de que esta proteína participa de manera importante en la interacción hospedero-patógeno, constituyendo un componente antigénico de interés para investigaciones posteriores.

Desde una perspectiva funcional, la identificación precisa de p62 podría contribuir significativamente a comprender con mayor profundidad los mecanismos moleculares involucrados en la interacción entre *Porphyromonas gingivalis* y el sistema inmunológico del hospedero. La determinación de su secuencia, estructura tridimensional, localización celular y función biológica permitiría establecer si este inmunógeno participa directamente en procesos asociados con la adhesión bacteriana, la colonización de los tejidos periodontales, la obtención de nutrientes, la evasión de la respuesta inmune o la modulación de procesos inflamatorios, mecanismos ampliamente reconocidos como determinantes en la patogénesis de la periodontitis. De igual manera, su caracterización favorecería la incorporación de nuevos componentes al repertorio de antígenos conocidos de *Porphyromonas gingivalis*, ampliando el conocimiento disponible sobre la biología molecular de este importante patógeno periodontal.

Asimismo, la elevada inmunorreactividad observada posiciona a p62 como un biomarcador potencial de exposición inmunológica y como un candidato prioritario para el desarrollo de herramientas diagnósticas basadas en el reconocimiento serológico. La incorporación de proteínas altamente inmunogénicas en plataformas diagnósticas puede incrementar la sensibilidad y especificidad de los métodos destinados a detectar la respuesta inmunológica frente a *Porphyromonas gingivalis*, particularmente cuando dichos antígenos son reconocidos de forma consistente por individuos expuestos al microorganismo. En consecuencia, futuros estudios dirigidos a la purificación, secuenciación e identificación definitiva de esta proteína, así como a la evaluación de su comportamiento

inmunológico en cohortes más amplias de pacientes con diferentes grados de enfermedad periodontal, permitirán establecer con mayor precisión su utilidad como biomarcador, blanco diagnóstico o incluso como posible candidato antigénico para estrategias inmunoprolácticas. En conjunto, estos hallazgos sustentan que p62 representa uno de los inmunógenos más relevantes identificados en el presente estudio y justifican plenamente la realización de investigaciones adicionales encaminadas a esclarecer su identidad, función biológica y potencial aplicación clínica.

PREDICCIÓN ESTRUCTURAL DE LA OMP40

Con el fin de respaldar la identificación putativa de la proteína inmunorreactiva de aproximadamente 40 kDa, como la proteína de membrana externa de 40 kDa (Omp40) (Hiratsuka et al., 1992; Namikoshi et al., 2003), se realizó la predicción de su estructura tridimensional mediante AlphaFold 3. El modelo obtenido presentó un plegamiento caracterizado por un dominio β predominante, constituido principalmente por láminas β antiparalelas organizadas en una arquitectura compacta compatible con proteínas localizadas en la membrana externa de bacterias Gram negativas tipo barril- β (Figura 2E).

La representación coloreada de acuerdo con el índice pLDDT evidenció que la mayor parte del dominio estructurado presentó valores superiores a 90 (color azul oscuro), indicando una muy alta confianza en la predicción local del modelo. Algunas regiones periféricas y segmentos tipo bucle mostraron valores intermedios (cian y amarillo), mientras que los extremos amino y carboxilo terminales presentaron valores bajos de confianza (naranja), lo que sugiere una mayor flexibilidad conformacional o la posible presencia de regiones intrínsecamente desordenadas.

El análisis de la matriz Predicted Aligned Error (PAE) mostró valores bajos de error esperado dentro de cada dominio estructural, reflejados por la coloración verde oscuro a lo largo de la diagonal principal de la matriz. En contraste, las regiones localizadas fuera de la diagonal presentaron valores ligeramente superiores, indicando una incertidumbre moderada en la orientación relativa entre algunos dominios flexibles, sin afectar la confiabilidad del plegamiento local de la proteína.

El modelo presentó un Predicted Template Modeling score (pTM) de 0.54, valor que indica una confianza global moderada en la orientación espacial entre dominios, aunque compatible con un modelo estructural útil para el análisis funcional y la interpretación de las regiones inmunogénicas. En

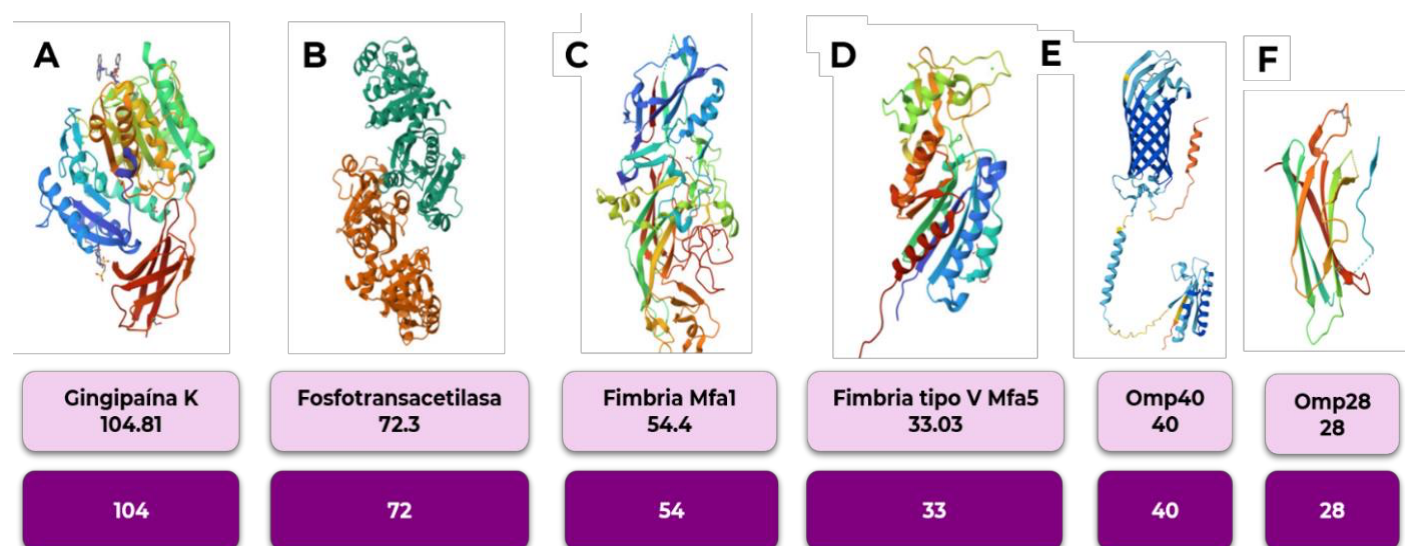


Figura 2. Identificación putativa de los inmunógenos de *Porphyromonas gingivalis*. En A-D y F. Estructuras cristalográficas; E, modelado 3D con AlphaFold, correspondientes a seis de los 7 inmunógenos detectados en el ECPg en este estudio, exceptuando a p62 de la cual se desconoce su secuencia de aminoácidos. Rectángulos rosas, nombre y peso molecular (PM en kDa) de la proteína de *Porphyromonas gingivalis* reportado en las bases de datos (PDB, Uniprot y NCBI Protein); rectángulos morados, PM experimental, estimados con el software PD Quest (Bio-Rad).

conjunto, estos resultados respaldan que la proteína presenta un núcleo estructural altamente confiable, mientras que las regiones de menor confianza probablemente corresponden a segmentos flexibles expuestos al solvente, potencialmente involucrados en procesos de reconocimiento molecular o interacción con el hospedero. Desde una perspectiva inmunológica, las regiones estructuralmente flexibles y expuestas al solvente identificadas en el modelo constituyen candidatos plausibles para contener epítomos conformacionales accesibles al reconocimiento de anticuerpos (Cancro & Tomayko, 2021). Aunque esta hipótesis requiere validación experimental, el análisis estructural *in silico* proporciona una base conceptual útil para interpretar la inmunorreactividad observada contra esta proteína, y para orientar a futuros estudios dirigidos a la identificación precisa de sus determinantes antigénicos o epítomos.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una limitación del presente estudio es que la identidad de las proteínas inmunorreactivas fue propuesta mediante correlación de los pesos moleculares experimentales con la información disponible en las bases de datos bioinformáticas y análisis estructural *in silico*, sin emplear metodologías proteómicas de identificación directa. Por lo tanto, las asignaciones realizadas deben considerarse putativas. Sin embargo, el enfoque empleado permitió identificar proteínas inmunogénicas relevantes de *Porphyromonas gingivalis* y establecer una base sólida para estudios posteriores enfocados a la validación molecular de la identidad bioquímica y funcional de estos inmunógenos.

CONCLUSIONES

El análisis inmunoquímico del extracto proteico crudo de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (ECPg) permitió identificar quince bandas proteicas, de las cuales siete de esas proteínas (28, 33, 40, 54, 62, 72 y 104 kDa) fueron reconocidas por anticuerpos del isotipo IgG producidos en ratones BALB/c inmunizados con el ECPg. Estos resultados demuestran que el extracto contiene múltiples inmunógenos capaces de evocar una respuesta humoral antígeno-específica.

La integración de técnicas inmunoquímicas y herramientas bioinformáticas permitió proponer la identidad putativa de seis proteínas inmunorreactivas asociadas a procesos de adhesión, metabolismo y virulencia bacteriana. Entre ellas, sobresalen Omp28, Omp40, Mfa5, Mfa1, fosfotransacetilasa y Gingipaina K. La proteína p62 representó el principal hallazgo del estudio

debido a que presentó la inmunorreactividad más prominente y no pudo ser asociada de manera confiable con proteínas previamente caracterizadas.

En conjunto, estos resultados amplían el conocimiento del repertorio antigénico de *Porphyromonas gingivalis* y proporcionan una base experimental para futuros estudios dirigidos a la caracterización molecular y funcional de sus inmunógenos, así como para explorar su potencial aplicación en el desarrollo de herramientas diagnósticas o terapéuticas en enfermedades periodontales causadas por *Porphyromonas gingivalis*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal del Laboratorio de Biomedicina Molecular de la FCQB, UAS por el soporte técnico brindado.

DECLARACIÓN DE USO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Durante la preparación de este manuscrito se emplearon herramientas de inteligencia artificial generativa como apoyo para la edición del texto, corrección de estilo, revisión lingüística y mejora de la claridad expositiva. Adicionalmente, se utilizó la plataforma AlphaFold 3 para la predicción *in silico* de estructuras tridimensionales de proteínas seleccionadas de *Porphyromonas gingivalis*. El uso de estas herramientas se limitó al apoyo en la elaboración y análisis complementario del manuscrito; la concepción del estudio, el diseño experimental, la obtención y análisis de los datos, la interpretación biológica de los resultados y las conclusiones científicas fueron realizados por los autores, quienes asumen plena responsabilidad sobre el contenido final del trabajo.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses

APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA

El proyecto DCB 2023-1 Identificación de proteínas antigénicas en el inmunoproteoma de *Porphyromonas gingivalis* del cual derivó este trabajo fue avalado por el H. Comité de Investigación y Ética del Posgrado en Ciencias Biomédicas, UAS.

REFERENCIAS

Abramson, J., Adler, J., Dunger, J., Evans, R., Green, T., Pritzel, A., Ronneberger, O., Willmore, L., Ballard, A. J., Bambrick, J., Bodenstein, S. W., Evans, D. A., Hung, C. C., O'Neill, M., Reiman, D.,

- Tunyasuvunakool, K., Wu, Z., Žemgulytė, A., Arvaniti, E., ... Jumper, J. M. (2024). Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature*, 630(8016), 493–500. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07487-w>
- Cancro, M. P., & Tomayko, M. M. (2021). Memory B cells and plasma cells: The differentiative continuum of humoral immunity. In *Immunological Reviews*. John Wiley and Sons Inc. 303 (1), 72–82. <https://doi.org/10.1111/imr.13016>
- Chen, C.-K. C., Denardin, A., Dyer, D. W., Genco, R. J., & Neiders, M. E. (1991). Human Immunoglobulin G Antibody Response to Iron-Repressible and Other Membrane Proteins of Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis. *Infection and Immunity*. 59 (7), 2427–2433. <https://doi.org/10.1128/iai.59.7.2427-2433.1991>
- Diehl, K.-H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J.-M., & Van De Vorstenbosch, C. (2001). A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. *Journal Of Applied Toxicology* 21: 15–23. <https://doi.org/10.1002/jat.727>
- Franca, M., Moura-Costa, L., Meyer, R. J., Trindade, S. C., Da, U., Tunes, R., & Freire, S. M. (2007). Humoral immune response to antigens of Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 in chronic periodontitis. *Journal of Applied Oral Science*. 15(3), 213–219. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572007000300011>
- González, P., Beltrán-López, E., & López-Moreno H.S. (2024). Cloning and recombinant expression of the Immunoglobulin-like variable domains of humans PD-1 and PD-L1 immunoreceptors. *QUIBIOUAS Revista De Ciencias Químico Biológicas*, 2,1–10. <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/article/view/598>
- Guevara, T., Rodríguez-Banqueri, A., Lasica, A. M., Ksiazek, M., Potempa, B. A., Potempa, J., & Gomis-Rüth, F. X. (2019). Structural determinants of inhibition of Porphyromonas gingivalis gingipain K by KYT-36, a potent, selective, and bioavailable peptidase inhibitor. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41354-3>
- Hall, M., Hasegawa, Y., Yoshimura, F., & Persson, K. (2018). Structural and functional characterization of shaft, anchor, and tip proteins of the Mfa1 fimbria from the periodontal pathogen Porphyromonas gingivalis. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20067-z>
- Heidler, T. V., Ernits, K., Ziolkowska, A., Claesson, R., & Persson, K. (2021). Porphyromonas gingivalis fimbrial protein Mfa5 contains a von Willebrand factor domain and an intramolecular isopeptide. *Communications Biology*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01621-w>
- Hirai, K., Yamaguchi-Tomikawa, T., Eguchi, T., Maeda, H., & Takashiba, S. (2020). Identification and Modification of Porphyromonas gingivalis Cysteine Protease, Gingipain, Ideal for Screening Periodontitis. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01017>
- Hiratsuka, K., Abiko, Y., Hayakawa, M., Ito, T., Sasahara, H., & Takiguchi, H. (1992). Role of Porphyromonas gingivalis 40-kDa Outer Membrane Protein in the aggregation of P. gingivalis vesicles and Actinomyces viscosus. *Archives of oral biology*, 37(9), 717–724. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(92\)90078-m](https://doi.org/10.1016/0003-9969(92)90078-m)
- López-Moreno, H.S., Correa, D., Laclette, J.P., & Ortiz-Navarrete, V.F. (2003). Identification of CD4 + T cell epitopes of Taenia solium paramyosin. In *Parasite Immunology*. 25(10), 513–516. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2003.00658.x>
- Lunar, I., & Cascales, E. (2021). Molecular Strategies Underlying Porphyromonas gingivalis Virulence. In *Journal of Molecular Biology*. Academic Press. 433 (7). 166836. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2021.166836>
- Mann, M., Hendrickson, R. C., & Pandey, A. (2001). Analysis of Proteins and Proteomes By Mass Spectrometry. *Annual Review of Biochemistry*. 70:437–473. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.70.1.437>
- Messina, B. M., Grippaudo, C., Polizzi, A., Blasi, A., & Isola, G. (2025). The Key Role of Porphyromonas gingivalis in the Pathogenesis of Periodontitis Linked with Systemic Diseases. In *Applied Sciences (Switzerland)* 15(12). 6847. <https://doi.org/10.3390/app15126847>
- Mysak, J., Podzimek, S., Sommerova, P., Lyuya-Mi, Y., Bartova, J., Janatova, T., Prochazkova, J., & Duskova, J. (2014). Porphyromonas gingivalis: Major periodontopathic pathogen overview. *Journal of Immunology Research*. Hindawi Publishing Corporation. 476068. <https://doi.org/10.1155/2014/476068>
- Namikoshi, J., Otake, S., Maeba, S., Hayakawa, M., Abiko, Y., & Yamamoto, M. (2003). Specific antibodies induced by nasally administered 40-kDa outer membrane protein of Porphyromonas gingivalis inhibits coaggregation activity of P. gingivalis. *Vaccine*, 22(2), 250–256. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(03\)00576-0](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(03)00576-0)
- Nazir, M., Al-Ansari, A., Al-Khalifa, K., Alhareky, M., Gaffar, B., & Almas, K. (2020). Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its

- Surveillance. *Scientific World Journal*. 2146160. <https://doi.org/10.1155/2020/2146160>
- Nobre dos Santos-Lima, E. K., Araújo Paiva Andrade Cardoso, K., Mares de Miranda, P., Cirino de Carvalho-Filho, P., Passos Rocha, T., Ferreira de Moura-Costa, L., Olczak, T., Miranda Lopes Falcão, M., Gomes-Filho, I. S., Meyer, R., Tosta Xavier, M., & Castro Trindade, S. (2020). Novel synthetic peptide derived from Porphyromonas gingivalis Lys-gingipain detects IgG-mediated host response in periodontitis. *Anaerobe*, 61. 102140. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.102140>
- Oliva, L. E. R., Najera, R. I. S., Zavala, C. E. del P. S. M., Ancona, P. E. L., Elizondo, J. E., Rangel, S. S., Regalado, S. E. F., & Soto, J. M. S. (2022). Porphyromonas: A dental approach. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 8(2), 213–216. <https://doi.org/10.22271/oral.2022.v8.i2d.1510>
- Piedra-Quintero, Z. L., Apodaca-Medina, A. I., Beltrán-López, E., León-Sicairos, C. R., Chávez-Ontiveros, J., Rendón-Maldonado, J. G., Ortiz-Navarrete, V. F., & López-Moreno, H. S. (2015). Immunoproteomic Identification of p29 Antigen as the Elongation Factor-1 α of Leishmania mexicana. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15(7), 449–452. <https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1712>
- Reyes, L. (2021). Porphyromonas gingivalis. In *Trends in Microbiology* (Vol. 29, Number 4, pp. 376–377). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.010>
- Sanchez, A. A., Moyeda, A. L. G., Ibarra, K. I. J., Pascual, J. B., Rodríguez, D. L., Salazar, V. I. Q., Villarreal, C. A. A., & Soto, J. M. S. (2022). Porphyromonas gingivalis, an Orthodontic point of view. *International Journal of Applied Dental Sciences*, 8(4), 82–87. <https://doi.org/10.22271/oral.2022.v8.i4b.1629>
- Siemińska, K., Cierpisz, P., Śmiga, M., & Olczak, T. (2021). Porphyromonas gingivalis hmuY and bacteroides vulgatus bvU—a novel competitive heme acquisition strategy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms22052237>
- Slakeski, N., Margetts, M., Moore, C., Czajkowski, L., Barr, I. G., & Reynolds, E. C. (2002). Characterization and expression of a novel Porphyromonas gingivalis outer membrane protein, Omp28. *Oral Microbiology Immunology*, 17, 150–156., 105–115. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3630105>
- Villa-Medina, M. C., Díaz-Gaxiola, C., Rosales-Reyes, R., Durán-Pérez, S. A., Vega-Castillo, U., Rodríguez-Rochín, J. A., León-Sicairos, C. del R., Beltrán-López, E., & López-Moreno, H. S. (2025). Cloning and Recombinant Expression of the Caspase-Activated DNase Orthologous Gene of Giardia lamblia. *BioMed Research International*, 3420875. <https://doi.org/10.1155/bmri/3420875>
- Xu, W., Zhou, W., Wang, H., & Liang, S. (2020). Roles of Porphyromonas gingivalis and its virulence factors in periodontitis. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 120, 45–84. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.12.001>
- Yoshida, Y., Sato, M., Nonaka, T., Hasegawa, Y., & Kezuka, Y. (2019). Characterization of the phosphotransacetylase-acetate kinase pathway for ATP production in Porphyromonas gingivalis. *Journal of Oral Microbiology*, 11(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1588086>

Fenotipo de virulencia, multirresistencia y tolerancia a desinfectantes de un aislado clínico de *Pseudomonas fluorescens*

Phenotype of virulence, multidrug resistance, and disinfectant tolerance of a clinical isolate of *Pseudomonas fluorescens*

Martínez-Valenzuela, M.¹ , Clemente-Soto, A.F.¹ , Castañeda-Ruelas, G.M.^{2*} 

¹Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms". Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, C.P. 80013.

²Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80013.

RESUMEN

Pseudomonas fluorescens ha surgido como patógeno oportunista multirresistente, lo que advierte un riesgo para las infecciones nosocomiales. El objetivo de este estudio fue caracterizar el fenotipo de virulencia, resistencia a antibióticos y tolerancia a desinfectantes en una cepa de *P. fluorescens* aislada de infección intrahospitalaria. La resistencia a antibióticos, los factores de virulencia (enzimas, pigmentos, elementos de movilidad y estrés térmico) y la tolerancia a desinfectantes convencionales se determinaron por pruebas fenotípicas. La cepa de *P. fluorescens* mostró un potencial patogénico adaptativo a 37 °C, caracterizado por la expresión de enzimas (hemolisina y fosfolipasa), producción de pigmentos (pioverdina, piocianina), movilidad por flagelo y resistencia extendida frente a 16 antibióticos (correspondientes a ocho familias distintas). La tolerancia de *P. fluorescens* varió según el desinfectante ($P \leq 0.05$); la solución de plata y el sanitizante en aerosol mostraron actividad biocida. La expresión simultánea de los factores de virulencia y la multirresistencia de *P. fluorescens* a temperatura fisiológica sugieren su papel como potencial peligro nosocomial. La solución de plata y la aerosolización son propuestas como estrategias alternativas para el diseño de protocolos de sanitización.

Palabras clave: Nosocomial, Patogenicidad, Patógeno, *Pseudomonas*, Resistencia.

ABSTRACT

Pseudomonas fluorescens has emerged as a multidrug-resistant opportunistic pathogen, raising concerns about the risk of nosocomial infection. The study aimed to characterize the virulence phenotype, antimicrobial resistance pattern, and disinfectant tolerance of a *P. fluorescens* strain isolated from a hospital-acquired infection. Antibiotic resistance, virulence factors (enzymes, pigments, motility elements, and thermal stress), and tolerance to conventional disinfectants were evaluated using phenotypic assays. The *P. fluorescens* strain showed an adaptive pathogenic potential at 37 °C, characterized by the expression of enzymes (hemolysin and phospholipase), pigment production (pyoverdine and pyocyanin), flagellar motility, and extended multidrug resistance against 16 antibiotics (from eight different families). Tolerance of *P. fluorescens* varied by the disinfectant ($P \leq 0.05$); the silver solution and aerosol sanitizer demonstrated biocidal activity. The simultaneous expression of virulence factors and multidrug resistance in the *P. fluorescens* strain at physiological temperature suggests its potential as a nosocomial hazard. The silver solution and aerosolization are proposed as alternative strategies for designing a sanitation protocol.

Keywords: Nosocomial, Pathogenicity, Pathogen, *Pseudomonas*, Resistance.

INTRODUCCIÓN

Pseudomonas fluorescens (*P. fluorescens*) pertenece al género *Pseudomonas*, un amplio grupo de bacterias gramnegativas, aerobias estrictas y móviles. Esta especie es considerada una bacteria ambiental debido a su rol como saprófito del suelo y del agua, o bien como microbiota de plantas, desempeñando un papel fundamental en la salud vegetal (Scales et al., 2014; Pérez et al., 2015).

Tradicionalmente, *P. fluorescens* se considera una bacteria de baja virulencia y rara vez ha sido relacionada con infecciones en hospederos sanos (Nishimura et al., 2017). En la actualidad, *P. fluorescens* ha emergido como una bacteria patógena oportunista; su capacidad infecciosa se manifiesta en condiciones ambientales propicias y en pacientes inmunocomprometidos o sometidos a procedimientos médicos invasivos (Silverio et al., 2022). Por lo que, *P. fluorescens* ha sido asociado como agente de diversas infecciones nosocomiales (Scales et al., 2014). Al respecto, en México se reportaron 97 490 casos de infecciones nosocomiales en 2024 (Dirección General de Epidemiología, 2026), cuyo agente causal no está definido en el sistema.

El espectro clínico de las enfermedades asociadas a *P. fluorescens* es amplio y potencialmente grave (Scales et al., 2014). Su principal vía de entrada al entorno hospitalario suele ser mediante el agua, material médico contaminado y algunos vectores. Estas rutas de transmisión pueden desencadenar infecciones del torrente sanguíneo, urinarias, pulmonares, del líquido cefalorraquídeo, del líquido articular, de la piel y de los tejidos blandos (Silverio et al., 2022). Los casos de infecciones hospitalarias por *P. fluorescens* suelen estar ligados a su supervivencia en los desinfectantes y a fallos en las medidas higiénicas del entorno (Nagai et al., 2003).

El éxito de *P. fluorescens* como patógeno radica en un arsenal de factores de virulencia. Entre sus principales mecanismos se encuentra la producción de hemolisinas, lipasas y proteasas extracelulares que degradan los tejidos del hospedero, facilitando la invasión. La producción de sideróforos (pioverdina, enantiopiochelina, quinolobactina, pseudomonina, acinetobactina y anguibactina) para secuestrar el hierro es clave para sobrevivir en el hospedero. Adicionalmente, la movilidad mediada por flagelos permite colonizar las superficies y evadir eficazmente la respuesta inmunológica del hospedero (Scales et al., 2014).

Finalmente, el manejo terapéutico de este patógeno se ve gravemente obstaculizado por su notable resistencia a los antibióticos: betalactámicos, tetraciclinas, polimixinas, aminoglucósidos, fosmidomicina, fosfomicina, quinolonas y cloranfenicol. La resistencia a antibióticos de *P. fluorescens* se

ha asociado a mecanismos como las bombas de eflujo (transportadores ABC y RND) (Silverio et al., 2025). Aunado a esto, la capacidad para formar biopelículas en superficies incrementa la tolerancia a los antibióticos y desinfectantes, lo que favorece su colonización y evita su erradicación (Briega et al., 2025).

Esta combinación de factores de virulencia, resistencia a antibióticos y adaptabilidad de *P. fluorescens* representa una amenaza para el ámbito hospitalario. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue determinar los factores de virulencia, el perfil de resistencia a antibióticos y la tolerancia a desinfectantes, a fin de definir su papel como patógeno nosocomial.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE LA CEPA

El estudio incluyó una cepa de *Pseudomonas fluorescens* donada a la Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms" por el laboratorio clínico de microbiología de un hospital público de Culiacán, Sinaloa, México. El aislado estudiado corresponde a un espécimen clínico de procedencia indeterminada. La cepa fue obtenida de manera rutinaria en el laboratorio clínico de microbiología a partir de un cultivo heterogéneo en agar, la cual fue purificada y posteriormente identificada como *P. fluorescens* mediante el sistema automatizado VITEK®2 GN (bioMérieux, Francia). La cepa identificada como *P. fluorescens* fue donada y transportada en medio Stuart a la Unidad de Investigaciones en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms", para su purificación en agar Luria-Bertani (LB) y preservación en caldo LB y glicerol (20% v/v) a -80 °C. Para los ensayos, la cepa se cultivó en caldo LB a 37 °C por 24 h y se creció en agar LB. A partir del cultivo en agar LB, se tomaron colonias y se preparó una suspensión bacteriana a una concentración estándar de 0.5 en la escala de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL).

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

El perfil de resistencia a antibióticos se realizó mediante las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana utilizando el sistema automatizado VITEK® (bioMérieux, Francia) con la tarjeta AST-N (AST-N401), que contiene 16 antibióticos, y el método de antibiograma por difusión en disco con 12 antibióticos, bajo los rangos de concentración estandarizados por el fabricante (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020). La Figura 1 muestra el panel de los antibióticos evaluados para cada técnica. El sistema VITEK® excluye la evaluación de cuatro antibióticos (ampicilina/sulbactam, ertapenem, fosfomicina y nitrofurantoina) y la enzima BLEE (β -lactamasa de espectro extendido), debido a la ausencia de criterios de interpretación

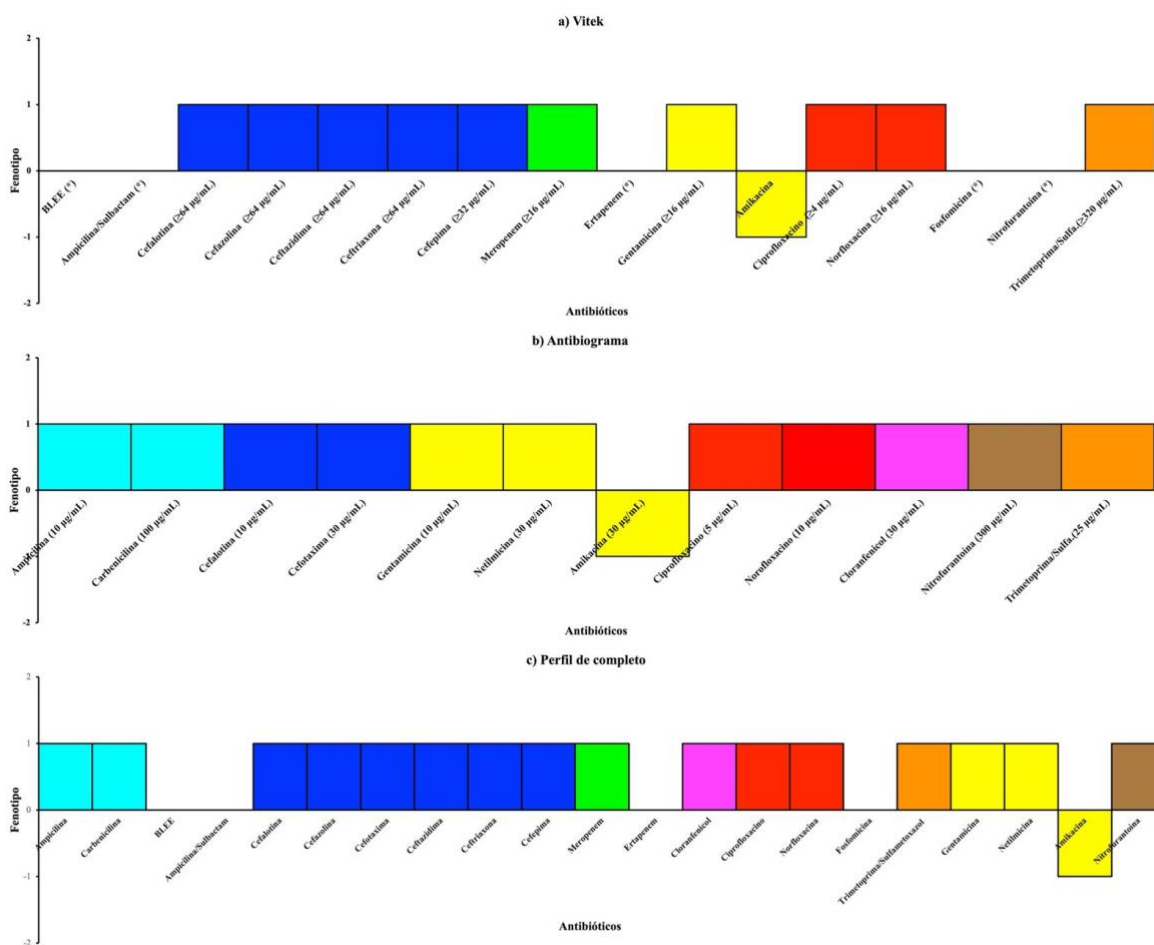


Figura 1. Perfil de resistencia a antibióticos de la cepa de *P. fluorescens*. Los resultados del fenotipo de resistencia a antibióticos se presentan conforme al sistema automatizado VITEK® (a), al antibiograma (b) y al perfil de resistencia a antibióticos integrado por ambos métodos (c). En los ejes de los gráficos, la expresión del fenotipo de la cepa de *P. fluorescens* se codifica como: (1) para la resistencia al antibiótico, (-1) para la susceptibilidad al antibiótico y 0 para los antibióticos (*) no evaluados por el sistema VITEK® debido a la falta de criterios de interpretación dada la falta de eficacia clínica. Los valores de la CMI (µg/mL) y la concentración (µg/mL) de los antibióticos se especifican entre paréntesis. La leyenda de colores indica la clase de antibióticos.

derivados de la falta de eficacia clínica. La suspensión bacteriana estandarizada (0.5 en la escala de McFarland) fue utilizada para la realización de ambas pruebas, y los ensayos se llevaron a cabo siguiendo los protocolos estandarizados del fabricante (bioMérieux) o CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020) para el sistema automatizado VITEK® y el antibiograma, respectivamente. Los resultados fueron interpretados con los valores de CMI (concentración mínima inhibitoria) con el software automatizado del VITEK®2 y con los valores del halo de inhibición (medidos en mm) en el antibiograma. La clasificación de los aislados de *P. fluorescens* como susceptibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) se basó en los lineamientos establecidos para CMI y halos por

el Comité Europeo de Evaluación de Susceptibilidad Antimicrobiana (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2020) y el Instituto de Estándares Clínicos de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020).

CARACTERIZACIÓN DE LOS DETERMINANTES DE VIRULENCIA

Para la evaluación de los determinantes de virulencia se incluyeron las pruebas de producción de pigmentos (piocianina y pioverdina), enzimas (hemolisina, proteasa y fosfolipasa) y estructuras de movilidad (flagelos y pili tipo IV).

PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

La suspensión bacteriana estandarizada (0.5 en la escala de McFarland) se sembró utilizando un hisopo estéril sobre la superficie de agar King A y agar King B para determinar la producción de piocianina (pigmento azul) y pioverdina (pigmento verde-amarillo), respectivamente. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h. Posteriormente, la producción de pigmentos en los cultivos King A y King B fue inspeccionada visualmente con luz visible y luz UV (366 nm), respectivamente (Edward et al., 2023).

PRODUCCIÓN DE ENZIMAS

La suspensión bacteriana estandarizada (0.5 en la escala de McFarland) se sembró utilizando un hisopo estéril sobre superficies de agar sangre al 5%, agar leche desnatada y agar yema de huevo al 5%, para determinar la producción de hemolisinas, proteasa alcalina y fosfolipasa C, respectivamente. Todos los cultivos se incubaron a 37 °C por 24 h. La formación de un halo translúcido alrededor del crecimiento microbiano evidencia la producción de los determinantes de virulencia. El fenotipo de hemólisis se clasificó como α (halo verdoso), β (halo claro) o γ (sin halo) (Moursi et al., 2025).

ESTRUCTURAS DE MOVILIDAD

El ensayo de estructuras de movilidad incluyó las pruebas de natación "swimming", enjambre "swarming" y contracción "twitching" para determinar la expresión de flagelos (unipolares o peritricos), hiperflagelación y pili tipo IV, respectivamente. Para evaluar la movilidad natatoria, un inóculo de 5 μ L de la suspensión estandarizada (0.5 en la escala de McFarland) se colocó (en el centro) dentro de las placas con agar semisólido de caldo Luria-Bertani (LB) suplementado con 0.3% p/v de agar. Para la prueba de enjambre, se colocaron (en el centro) 5 μ L de la suspensión estandarizada sobre la superficie del medio nutritivo suplementado con 0.5% p/v de agar y 0.5% p/v de D-Glucosa. Para la movilidad de contracción, se inocularon 5 μ L de la suspensión estandarizada en el medio LB suplementado con 1.0% p/v de agar, de modo que la punta de la puntilla tocó la interfaz agar-placa. El diámetro (en mm) de la zona de crecimiento se midió tras 24 h de incubación. Para considerarse móvil, el área total de crecimiento bacteriano debe ser $\geq 20 \text{ mm}^2$ (de Sousa et al., 2023).

SUPERVIVENCIA A 37 °C Y 42 °C

Se inocularon alícuotas de caldo LB con 100 μ L de la suspensión bacteriana estandarizada (0.5 en la escala de McFarland), y las muestras se incubaron

a 37 °C y 42 °C durante 24 h. El crecimiento se determinó cualitativamente por inspección visual de la turbidez de los cultivos (Procop et al., 2017).

TOLERANCIA A DESINFECTANTES

Para la evaluación de la tolerancia a desinfectantes se utilizó la prueba de difusión en pozo (Hossain et al., 2024). En placas con agar Mueller-Hinton se inoculó una suspensión estandarizada de la bacteria (0.5 en la escala de McFarland) utilizando un hisopo estéril, garantizando la cobertura completa de la placa. Luego, las placas se dejaron secar a temperatura ambiente por 30 min. En cada placa, se hicieron seis pozos equidistantes de 7 mm de diámetro utilizando el extremo opuesto de una puntilla estéril. Posteriormente, en los pozos se añadieron 50 μ L de los desinfectantes utilizados convencionalmente: hipoclorito de sodio (NaOCl) 1000 ppm, plata coloidal (Ag) 0.35 %, sanitizante en aerosol (etanol/isopropanol en gas transportador sin concentración especificada), desinfectante orgánico (ácido cítrico al 0.21% v/v) y solución de etanol al 70% v/v. Adicionalmente, se colocaron alícuotas de 50 μ L de solución salina 0.85% p/v como control negativo de la inhibición del crecimiento microbiano. Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h. Posteriormente, los halos fueron medidos con una regla y se calculó la zona de inhibición (ZOI) con la siguiente ecuación:

$$ZOI = \text{halo de inhibición (mm)} - \text{halo del pozo (mm)} \quad (1)$$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron mediante el programa estadístico Microsoft Excel versión 16.109. Se realizó un análisis de ANOVA para el ensayo de tolerancia a desinfectantes. Las diferencias entre las medias de los tratamientos se determinaron mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey. Un valor de $P \leq 0.05$ se consideró como nivel de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Los resultados obtenidos mediante el sistema VITEK® (Figura 1a) y el antibiograma (Figura 1b) demostraron una concordancia y complementariedad en los fenotipos de resistencia, lo que permitió la construcción de un perfil de resistencia a antibióticos confiable y robusto. La cepa de *P. fluorescens* mostró un perfil de multirresistencia que incluyó 16 antibióticos pertenecientes a ocho familias diferentes (Figura 1c).

La cepa de *P. fluorescens* puede considerarse como una bacteria de multirresistencia extendida, lo que representa un tema relevante para la salud pública. Nuestros resultados coinciden con los estudios previos que describen la robustez de los perfiles de resistencia a antibióticos en

aislados clínicos y ambientales de *P. fluorescens* (Silverio et al., 2025; Syamimi et al., 2025). La resistencia simultánea a ocho familias distintas de antibióticos en la cepa de *P. fluorescens* puede atribuirse a mecanismos de resistencia intrínseca, adquirida o adaptativa en respuesta a la presión selectiva del entorno de origen (hospitalario). Entre los mecanismos intrínsecos que posee *Pseudomonas* para desarrollar resistencia, están las bombas de eflujo, la baja permeabilidad de la membrana celular y la producción de enzimas hidrolíticas específicas. Además, se considera que la adquisición de elementos genéticos móviles (plásmidos o integrones) representa un mecanismo de resistencia frecuente para este género (Silverio et al., 2022; Silverio et al., 2025; Syamimi et al., 2025).

La supresión automática de resultados en el sistema VITEK® de ciertos antibióticos tiene implicaciones clínicas, metodológicas y terapéuticas relevantes. Se ha documentado que *Pseudomonas* exhibe resistencia a ampicilina/sulbactam debido a la presencia del gen cromosómico *Amp* que codifica la enzima hidrolítica de la ampicilina (Glen y Lamont, 2021). Asimismo, la resistencia a ertapenem, fosfomicina y nitrofurantoína se atribuye a un efecto de barrera debido a la pérdida de la porina OprD (Mączyńska et al., 2023), la ausencia de los sistemas de transporte activos (GlpT y UhpT) (Castañeda-García et al., 2009), y la sobreexpresión de bombas de expulsión activa (MexAB-OprM y MexCD-OprJ) (Morita et al., 2014), respectivamente.

Este comportamiento de *Pseudomonas* confirma que la resistencia a dichos antibióticos es de naturaleza intrínseca, lo que descarta su evaluación en la rutina clásica, y cualquier resultado debe interpretarse con cautela. En este sentido, los antibióticos ampicilina/sulbactam, ertapenem, fosfomicina, nitrofurantoína y la enzima BLEE no fueron considerados para integrar el perfil completo de resistencia a antibióticos de la cepa de *P. fluorescens*, pero se sugiere la potencial resistencia natural a ellos.

La cepa de *P. fluorescens* presenta un perfil de multiresistencia que plantea retos para el control de la bacteria y el tratamiento de las infecciones. La resistencia a 16 antibióticos (ocho familias diferentes) restringe las opciones de los esquemas terapéuticos (Gershman et al., 2008; Wong et al., 2011). Desde un punto de vista molecular, debe estudiarse la capacidad de adaptación de *Pseudomonas* frente a los antibióticos, con la finalidad de diseñar esquemas terapéuticos idóneos, preservar el uso de los antibióticos y contribuir a la vigilancia epidemiológica (Fernández-Billón et al., 2023).

DETERMINANTES DE VIRULENCIA

La cepa de *P. fluorescens* mostró un potencial patogénico adaptativo a 37 °C constituido por la expresión de las enzimas hemolisina (β -hemolítica) y fosfolipasa, pigmentos (pioverdina, pioacina) y movilidad por flagelo (Figura 2). La expresión de proteasas y los otros elementos de movilidad (hiperflagelación y pili tipo IV) no fueron observados a 37 °C, y tampoco se observó crecimiento de la cepa a 42 °C.

Se identificaron algunos de los factores de virulencia que posee y expresa la cepa de *P. fluorescens* mediante los ensayos fenotípicos. La expresión simultánea de los elementos de movilidad, los pigmentos y las enzimas a temperatura corporal (37 °C) permite señalar que la cepa posee los elementos clave para establecer el ciclo patogénico en el hospedero: adherencia, propagación, colonización y daño celular (Scales et al., 2014). La literatura ha discutido acerca de la presencia y la función de estos factores de virulencia que permiten definir el papel de *P. fluorescens* como saprófita o patógeno oportunista (Scales et al., 2015; Wang et al., 2021; Silverio et al., 2025). No obstante, el nulo crecimiento de la bacteria para sobrevivir a 42 °C compromete su habilidad para tolerar el estrés térmico del cuerpo humano febril, a diferencia de *P. aeruginosa*, que desarrolla mecanismos adaptativos (Robinson y Goldberg, 2026).

En la literatura se ha descrito que las cepas ambientales de *P. fluorescens* suelen mostrar una expresión atenuada de los factores de virulencia a > 30 °C debido a su naturaleza psicrófila (Donnaruma et al., 2010). No obstante, la capacidad de nuestra cepa para mantener activos algunos determinantes y la movilidad por flagelos (*swimming*) a temperatura corporal humana (37 °C) indica la adaptación y plasticidad de la bacteria para comportarse como patógeno oportunista, como se ha descrito previamente (Madi et al., 2010; Scales et al., 2014).

TOLERANCIA A LOS DESINFECTANTES

La sensibilidad de la cepa de *P. fluorescens* depende del desinfectante evaluado ($F = 44.57$; $P \leq 0.05$); la solución de Ag y el sanitizante en aerosol inhibieron el crecimiento microbiano (Tabla 1).

A pesar de los robustos perfiles de resistencia y virulencia descritos, la cepa mostró sensibilidad a ciertos desinfectantes (Ag y sanitizante en aerosol). Este comportamiento de la bacteria descarta una resistencia cruzada entre los antibióticos y los desinfectantes utilizados. No obstante, Sousa-Silva et al. (2018) han señalado que el incremento de la resistencia a antibióticos puede potenciar la reducción de la sensibilidad a desinfectantes, la resistencia adaptativa y la persistencia de biopelículas en *P. fluorescens*.

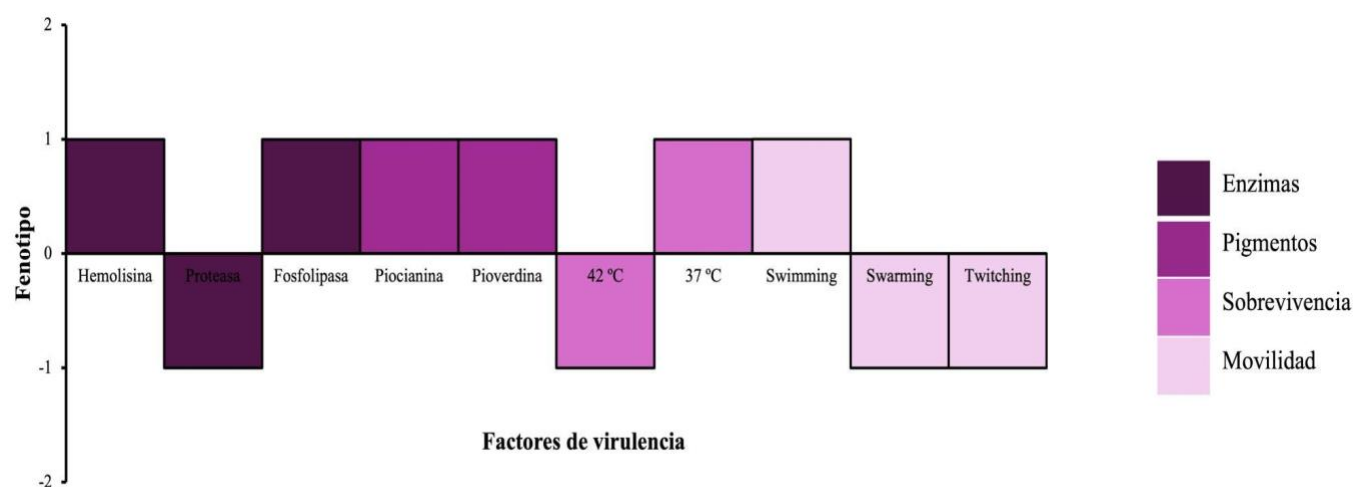


Figura 2. Perfil fenotípico de virulencia de la cepa de *P. fluorescens*. En los ejes de los gráficos, la expresión de los factores de virulencia se codifica como: (1) para la presencia y (-1) para la ausencia de crecimiento en condiciones de temperatura o de producción de enzimas, pigmentos y elementos de movilidad. La leyenda de colores indica el tipo de factor de virulencia.

Los compuestos químicos más utilizados para los desinfectantes son el amonio cuaternario, el peróxido de hidrógeno, el hipoclorito de sodio y el etanol (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, 2006). La tolerancia y crecimiento de *P. fluorescens* en desinfectantes tradicionales han sido documentados y atribuidos principalmente a la capacidad de formación de biopelículas (Merino et al., 2024; Jaouhar et al., 2025). Por otra parte, la sensibilidad de la cepa de *P. fluorescens* a la solución de Ag concuerda con investigaciones previas que posicionan a la Ag metálica y sus derivados nanoestructurados como potentes agentes antimicrobianos (Salomoni et al., 2017; Qassim y Almawla, 2021). Barnejee et al. (2026) han demostrado que la plata interactúa con las proteínas y el potencial de la membrana, desnatura proteínas y produce especies reactivas de oxígeno, siendo un mecanismo disruptivo que resulta letal incluso para cepas multirresistentes.

Por otro lado, la susceptibilidad al sanitizante en aerosol puede atribuirse a la exposición directa a los compuestos activos volátiles o tensioactivos que desestabilizan la membrana celular (Huffer et al., 2011), y al efecto de aerosolización que permite la difusión de la solución en forma de finas partículas evitando que la bacteria pueda activar respuestas de estrés (Merino et al., 2024). Como se observa en este estudio, el tratamiento a base de etanol sólo fue eficiente en presentación en aerosol.

La tolerancia a la mayoría de los desinfectantes evaluados (hipoclorito de sodio, etanol y ácidos orgánicos) permite señalar que el control de esta

bacteria no puede abordarse con protocolos y desinfectantes tradicionales. Estos hallazgos sugieren la incorporación de tecnologías basadas en soluciones de plata y sistemas de microaspersión ambiental como estrategia para el diseño de protocolos de sanitización idóneos para el control de la bacteria.

Tabla 1. Tolerancia a desinfectantes de la cepa de *P. fluorescens*.

Desinfectante	Zona de Inhibición (mm)
NaOCl 1000 ppm	0.0 ^c
Ag coloidal 0.35 %	10.5 ± 3.5 ^a
Sanitizante en aerosol	6.5 ± 0.7 ^b
Ácido orgánico 0.21 %	0.0 ^c
Etanol 70 %	0.0 ^c

Los datos están expresados como media ± desviación estándar.

Los valores que no comparten una misma letra presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La expresión simultánea de los factores de virulencia y la multirresistencia de *P. fluorescens* a temperatura corporal sugiere su papel como potencial peligro nosocomial. Este hallazgo evidencia la plasticidad de la bacteria para adquirir estrategias de resistencia y patogenicidad que le permiten evadir los esquemas terapéuticos convencionales y colonizar al hospedero en su temperatura corporal habitual. La sensibilidad a ciertos desinfectantes plantea pautas para el diseño de protocolos de bioseguridad

adecuados para el control de esta bacteria. Este estudio establece un precedente que demanda la intervención para la vigilancia de *P. fluorescens* como peligro de infecciones nosocomiales, y el desarrollo de nuevas estrategias para su control en las infecciones y en el entorno hospitalario.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo técnico de C. Anna Arreola-Arredondo, C. Alondra Castro-Hernández y C. Gael Geovanny Zapata Márquez.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

APROBACIÓN DE COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA

No aplica.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El consentimiento informado no fue requerido para este estudio, ya que no involucra experimentos con seres humanos y los datos del origen clínico del aislado se mantuvieron confidenciales.

REFERENCIAS

- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (2006). Reregistration eligibility decision for DDAC. https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/ddac_red.pdf
- Banerjee, A., Herrera-Vargas, I., Flores, M. E., Valenzuela, F., & Banerjee, S. (2026). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using cell-free extracts of thermotolerant bacteria: Antioxidant and antibacterial properties. *Electronic Journal of Biotechnology*, 79, 100698. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2025.100698>
- Briega, I., Garde, S., Sánchez, C., Rodríguez-Minguez, E., Picon, A., & Ávila, M. (2025). Evaluation of biofilm production and antibiotic resistance/susceptibility profiles of *Pseudomonas* spp. isolated from milk and dairy products. *Foods*, 14(7), 1105. <https://doi.org/10.3390/foods14071105>
- Castañeda-García, A., Rodríguez-Rojas, A., Guelfo, J. R., & Blázquez, J. (2009). The glycerol-3-phosphate permease GlpT is the only fosfomycin transporter in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 191(22), 6968–6974. <https://doi.org/10.1128/JB.00748-09>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (30th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- de Sousa, T., Hébraud, M., Alves, O., Costa, E., Maltez, L., Pereira, J. E., Martins, Â., Igrejas, G., & Poeta, P. (2023). Study of antimicrobial resistance, biofilm formation, and motility of *Pseudomonas aeruginosa* derived from urine samples. *Microorganisms*, 11(5), 1345. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051345>
- Dirección General de Epidemiología. (2026). Anuario de morbilidad 1984–2024. Secretaría de Salud. <https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/index.html>
- Donnarumma, G., Buommino, E., Fusco, A., Paoletti, I., Auricchio, L., & Tufano, M. A. (2010). Effect of temperature on the shift of *Pseudomonas fluorescens* from an environmental microorganism to a potential human pathogen. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 23(1), 227–234. <https://doi.org/10.1177/039463201002300120>
- Edward, E. A., El Shehawey, M. R., Abouelfetouh, A., & Aboulmagd, E. (2023). Prevalence of different virulence factors and their association with antimicrobial resistance among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Egypt. *BMC Microbiology*, 23, 161. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02897-8>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2020). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 10.0). EUCAST.
- Fernández-Billón, M., Llambías-Cabot, A. E., Jordana-Lluch, E., Oliver, A., & Macià, M. D. (2023). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Biofilm*, 5, 100129. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100129>
- Gershman, M. D., Kennedy, D. J., Noble-Wang, J., Kim, C., Gullion, J., Kacica, M., Jensen, B., Pascoe, N., Saiman, L., McHale, J., Wilkins, M., Schoonmaker-Bopp, D., Clayton, J., Arduino, M., Srinivasan, A., & *Pseudomonas fluorescens* Investigation Team. (2008). Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. *Clinical Infectious Diseases*, 47(11), 1372–1379. <https://doi.org/10.1086/592968>
- Glen, K. A., & Lamont, I. L. (2021). β -Lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Current status, future prospects. *Pathogens*, 10(12), 1638. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121638>

- Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 14(2), 97–115. <https://doi.org/10.1556/1886.2024.00035>
- Huffer, S., Clark, M. E., Ning, J. C., Blanch, H. W., & Clark, D. S. (2011). Role of alcohols in growth, lipid composition, and membrane fluidity of yeasts, bacteria, and archaea. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), 6400–6408. <https://doi.org/10.1128/AEM.00694-11>
- Jaouhar, S., Bouazziab, O. E., Hamzaouia, N., Benammiad, D., Toujamia, Z., Laarajc, S., Bouzidb, J., Saadiae, R., Rharibae, O., Chriquif, M., & Bekhti, K. (2026). Evaluation of disinfectant efficacy against bacterial strains isolated from hospital environments. *Multidisciplinary Science Journal*, 8, e2026314. <https://doi.org/10.31893/multiscience.2026314>
- Mączyńska, B., Jama-Kmiecik, A., Sarowska, J., Woronowicz, K., Choroszy-Król, I., Piątek, D., & Frej-Mądrzak, M. (2023). Changes in antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in a multi-profile hospital in years 2017–2022 in Wrocław, Poland. *Journal of Clinical Medicine*, 12(15), 5020. <https://doi.org/10.3390/jcm12155020>
- Madi, A., Svinareff, P., & Orange, N. (2010). *Pseudomonas fluorescens* alters epithelial permeability and translocates across Caco-2/TC7 intestinal cells. *Gut Pathogens*, 2, 16. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-2-16>
- Merino, N., García-Castillo, C., Berdejo, D., Pagán, E., & García-Gonzalo, D. (2024). Comparative analysis of commercial cleaning and disinfection formulations and protocols for effective eradication of biofilms formed by a *Pseudomonas fluorescens* strain isolated from a poultry meat plant. *Food Control*, 164, 110614. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110614>
- Morita, Y., Tomida, J., & Kawamura, Y. (2014). Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Frontiers in Microbiology*, 4, 422. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00422>
- Moursi, S. A., Saleem, M., Alharbi, M. S., Rakha, E., Alshmmari, A., Aboras, R., Hossaim, A., Alshubrum, S., Alnazaha, K., Alkhateeb, A., & Khaja, A. S. (2025). Resistance patterns and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients: A Saudi Arabian study. *Scientific Reports*, 15, 38118. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-18388-x>
- Nagai, K., Murata, T., Ohta, S., Zenda, H., Ohnishi, M., & Hayashi, T. (2003). Two different mechanisms are involved in the extremely high-level benzalkonium chloride resistance of a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Microbiology and Immunology*, 47(9), 709–715. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2003.tb03440.x>
- Nishimura, T., Hattori, K., Inoue, A., Ishii, T., Yumoto, T., Tsukahara, K., Nakao, A., Ishihara, S., & Nakayama, S. (2017). Bacteremia or pseudobacteremia? Review of *Pseudomonas fluorescens* infections. *World Journal of Emergency Medicine*, 8(2), 151–154. <https://doi.org/10.5847/wjem.j.1920-8642.2017.02.013>
- Pérez, S., Coto, O., Echemendía, M., & Ávila, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens*, biological control or pathogen? *Revista de Protección Vegetal*, 30(3), 225–234.
- Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., & Janda, W. M. (2017). *Koneman. Diagnóstico microbiológico: Texto y atlas en color (7.ª ed.)*. Wolters Kluwer.
- Qassim, H., & Almawla, Y. (2021). Silver nanoparticles as antibacterial action against *Pseudomonas fluorescens* isolated from burn infection. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 12578–12583.
- Robinson, R. E., & Goldberg, J. B. (2026). Mechanisms of thermoregulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 208(4), e00495–25. <https://doi.org/10.1128/jb.00495-25>
- Salomoni, R., Léo, P., Montemor, A. F., Rinaldi, B. G., & Rodrigues, M. (2017). Antibacterial effect of silver nanoparticles in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1709–1718. <https://doi.org/10.2147/NSA.S133415>
- Scales, B. S., Dickson, R. P., LiPuma, J. J., & Huffnagle, G. B. (2014). Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 927–948. <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-14>
- Scales, B. S., Erb-Downward, J. R., Huffnagle, I. M., LiPuma, J. J., & Huffnagle, G. B. (2015). Comparative genomics of *Pseudomonas fluorescens* subclade III strains from human lungs. *BMC Genomics*, 16, 1032. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2261-2>
- Silverio, M. P., Kraychete, G. B., Rosado, A. S., & Bonelli, R. R. (2022). *Pseudomonas fluorescens* complex and its intrinsic, adaptive, and acquired antimicrobial resistance mechanisms in pristine and human-impacted sites. *Antibiotics*, 11(8), 985. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11080985>

- Silverio, M. P., Schultz, J., Parise, M. T. D., Parise, D., Viana, M. V. C., Nogueira, W., Ramos, R. T. J., Góes-Neto, A., Azevedo, V. A. C., Brenig, B., Bonelli, R. R., & Rosado, A. S. (2025). Genomic and phenotypic insight into antimicrobial resistance of *Pseudomonas fluorescens* from King George Island, Antarctica. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1535420. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1535420>
- Sousa-Silva, M., Simoes, M., Melo, L., Machado, I. (2018). *Pseudomonas fluorescens* tolerance to benzyldimethyldodecyl ammonium chloride: Altered phenotype and cross-resistance. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15, 188-195. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.07.004>
- Syamimi, M.S., Ishamri, I., Nurhayati, Y., Abd, A., & Tang, J. Y. H. (2025). *Pseudomonas fluorescens* and *P. aeruginosa* contaminations of poultry and poultry products: A review on food safety and quality. *International Food Research Journal*, 32(3), 621-640. <https://doi.org/10.47836/ifrj.32.3.01>
- Wang, J., Luo, Y., Gu, Y., & Wei, H. L. (2021). Characterization of the SPI-1 type III secretion system in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. *Frontiers in Microbiology*, 12, 749037. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.749037>
- Wong, V., Levi, K., Baddal, B., Turton, J., & Boswell, T. C. (2011). Spread of *Pseudomonas fluorescens* due to contaminated drinking water in a bone marrow transplant unit. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(6), 2093-2096. <https://doi.org/10.1128/JCM.02559-10>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA