



**LIBRO BLANCO**

## **Mejora de la eficiencia diagnóstica con la combinación del diferencial de 5 partes y la proteína C reactiva**

### **Autora**

**Dra. Maike Rehage**  
m.rehage@human.de

[09-2023]

## Abstract / Resumen ejecutivo

*Las pruebas diagnósticas con un tiempo de respuesta rápido son fundamentales para que los profesionales sanitarios puedan determinar rápidamente la estrategia de tratamiento adecuada para sus pacientes en una fase temprana de la enfermedad.*

*La combinación del análisis de la proteína C reactiva (CRP) y el hemograma completo (CBC, por sus siglas en inglés), que suelen incluirse entre las primeras pruebas realizadas a los pacientes, puede reducir el tiempo de respuesta del laboratorio y resulta beneficiosa para los pacientes de consultas médicas, unidades de cuidados intensivos y servicios de urgencias. Esta combinación de parámetros puede ser especialmente útil para diferenciar entre las infecciones bacterianas y víricas. Además, desempeña un importante papel en muchas otras áreas de diagnóstico, como las pruebas relacionadas con la fiebre, la inflamación aguda y crónica, las enfermedades autoinmunes, las infecciones por SARS-CoV-2, el control de infecciones posoperatorias y muchas más.*

*Este artículo se centra en las ventajas de combinar el análisis de la CRP y el hemograma completo en un solo sistema a fin de mejorar el flujo de trabajo y la eficacia en el diagnóstico.*

## Hemograma completo y proteína C reactiva

Un hemograma completo es un análisis de sangre imprescindible y exhaustivo que evalúa el tipo, el número, el tamaño y otras características de las células sanguíneas de un paciente. El hemograma completo determina la cantidad de eritrocitos (RBC), plaquetas (PLT) y leucocitos (WBC), incluido el recuento diferencial de leucocitos. Cada uno de estos tipos de células sanguíneas desempeña funciones importantes, por lo que determinar su concentración puede proporcionar información importante sobre el estado general de salud y ayudar a diagnosticar una serie de afecciones.

El hemograma completo es una herramienta médica importante porque permite analizar todas las células que se encuentran en la sangre, así como algunas de las características físicas de esas células, a partir de una sola muestra de sangre<sup>1</sup>. Los hemogramas completos se suelen acompañar de una prueba de proteína C reactiva. La proteína C reactiva (CRP) es una proteína de la fase aguda altamente sensible que se libera en el torrente sanguíneo pocas horas después de una lesión, una infección o cualquier otra causa de inflamación<sup>2,3</sup>.

La concentración de CRP puede aumentar antes de que se den los síntomas clínicos de una enfermedad concreta, como el dolor o la fiebre, lo que resulta útil para emitir un diagnóstico precoz. La CRP es especialmente útil para el diagnóstico y la evaluación de infecciones, la identificación de las causas de la fiebre, la diferenciación entre infecciones bacterianas y víricas y en casos de afecciones inflamatorias.

## **La CRP y el hemograma completo son importantes herramientas para el diagnóstico de diversas enfermedades y afecciones.**

Las infecciones bacterianas y víricas provocan síntomas similares, como debilidad, fiebre y dolores musculares, entre otros. Hoy en día, se suelen recetar antibióticos libremente sin contar con una confirmación clínica de la presencia de bacterias. Por desgracia, en muchos casos puede resultar

bastante difícil diferenciar entre infecciones bacterianas y víricas en base a signos y síntomas inespecíficos, por ejemplo, en pacientes de infecciones respiratorias<sup>4,5,6</sup>.

Sin embargo, para un tratamiento y un pronóstico adecuados de la enfermedad, es fundamental diferenciar lo antes posible entre los dos tipos de infección. Las infecciones bacterianas suelen tratarse con antibióticos, mientras que aplicar este mismo tratamiento para las infecciones víricas es inútil, además de contraproducente: las tasas de prescripción inadecuadas y el abuso de los antibióticos han dado lugar a la resistencia antimicrobiana, una de las mayores amenazas para la salud mundial<sup>7</sup>. Por lo tanto, los antibióticos solo deben recetarse y administrarse cuando sean necesarios según las directrices actuales<sup>8</sup>.

Combinar un hemograma completo con el análisis de la CRP es una forma eficaz de mejorar el diagnóstico y puede ayudar a reducir el uso innecesario de antibióticos<sup>9</sup>. La siguiente tabla muestra los intervalos de referencia de la CRP para diferentes procesos patológicos y sus posibles causas:

| Intervalo de CRP | Actividad de la enfermedad | Causas   |
|------------------|----------------------------|--|
| < 5 mg/l         | No consta                  | No consta  |
| 5-10 mg/l        | Inflamación de bajo grado  | Obesidad, diabetes <i>mellitus</i> tipo 2, enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas, tabaquismo, embarazo, etc.  |
| 10-40 mg/l       | Inflamación leve           | Abscesos localizados, traumatismos quirúrgicos leves, traumatismos por accidente, infarto de miocardio, trombosis venosa profunda, enfermedad reumática inactiva, enfermedad de Crohn, tumor maligno metastásico, infecciones víricas aisladas, etc. |
| 40-100 mg/l      | Inflamación moderada       | Procesos inflamatorios graves como la bronquitis, la cistitis purulenta, la supuración dental y las infecciones urinarias y genitales. Estas infecciones requieren tratamiento médico, por ejemplo, con antibióticos.                                |
| > 100 mg/l       | Inflamación de alto grado  | Infecciones agudas generalizadas provocadas por bacterias y hongos (sepsis), así como daño tisular grave tras sufrir politraumatismos o someterse a intervenciones quirúrgicas significativas  |

(Adaptado de: Thomas, L. C-reaktives Protein (CRP) En: Prof. Dr. Lothar Thomas, Kirschbaumweg 8, 60489 Frankfurt (ed.) *Labor und Diagnose 2020*. Chapter 19.4. Consultado el 19 de septiembre de 2023. <https://www.labor-und-diagnose-2020.de>)

Aunque algunos estudios recientes han puesto de relieve nuevos biomarcadores de infección bacteriana, la CRP y el hemograma completo siguen siendo rentables en un entorno de laboratorio estandarizado gracias a la amplia disponibilidad de material para el control de calidad interno (CCI) y de programas de evaluación externa de la calidad (EQA). Según la bibliografía revisada, las pruebas de CRP pueden ser beneficiosas para racionalizar el uso de los antibióticos en pacientes febriles, especialmente en entornos con recursos limitados<sup>10</sup>.

Entre otras aplicaciones, la combinación de un hemograma completo y un análisis de CRP desempeña un papel importante en la investigación de fiebres como la malaria, el dengue, etc. La fiebre es un síntoma que puede deberse a una infección leve, aunque también puede ser una manifestación de una infección mortal que progresa rápidamente. Por lo tanto, reducir el tiempo necesario para emitir un diagnóstico y comenzar el tratamiento rápidamente puede salvar la vida del paciente<sup>11</sup>. Para determinar la posible causa de la fiebre, se necesita una combinación de una valoración detallada del curso clínico, exploraciones físicas y datos de laboratorio.

Por ejemplo, las infecciones por dengue y malaria, que suelen coexistir en zonas endémicas, cursan con síntomas similares y producen anomalías relativamente parecidas en los parámetros del hemograma completo. La combinación del nivel de CRP y el recuento de plaquetas (PLT) puede ser útil para diferenciar entre el dengue y la malaria, puesto que un recuento bajo de PLT es indicativo de dengue, mientras que un recuento bajo de PLT junto con un nivel elevado de CRP es más característico de la malaria<sup>12</sup>. Muchas infecciones parasitarias están relacionadas con la eosinofilia, pero en la malaria, que es una infección protozoaria, los eosinófilos (EOS) están dentro del intervalo normal<sup>13</sup>. La CRP no es un biomarcador específico de la malaria y su sensibilidad a las infecciones víricas es baja. Sin embargo, es un parámetro útil para comprender la etiología de la infección y distinguir la malaria y el dengue de otras enfermedades causantes de anomalías hematológicas similares<sup>14</sup>. Por otro lado, el dengue y otras infecciones no víricas pueden coexistir en una misma muestra, por lo que la CRP no debe ser el criterio exclusivo para diferenciar entre ambas enfermedades.

Tabla 1: Manifestaciones clínicas en pacientes con malaria y dengue

| Enfermedad | Tipo de infección | WBC         | PLT      | EOS         | CRP    |
|------------|-------------------|-------------|----------|-------------|--------|
| Dengue     | Virus             | Muy bajo    | Muy bajo | Normal/Bajo | Normal |
| Malaria    | Protozoos         | Normal/Bajo | Bajo     | Normal/Bajo | Alto   |

Durante la pandemia de COVID-19, la CRP desempeñó un papel importante en el diagnóstico y el seguimiento de la enfermedad. Al principio de la pandemia, cuando no se disponía de pruebas PCR ni de pruebas diagnósticas rápidas, era necesario establecer una forma de detección sistemática práctica y eficaz aplicable a grandes poblaciones para detectar las infecciones por SARS-CoV-2. Los primeros informes procedentes de China recomendaban incluir el recuento de leucocitos y la CRP en las pruebas de laboratorio para el seguimiento precoz de la infección<sup>15</sup>. Además de la saturación capilar periférica de oxígeno (SpO<sub>2</sub>), se utilizaron otros criterios para el triaje precoz de los pacientes, como un recuento de linfocitos inferior a 1100/ $\mu$ l y una concentración elevada de CRP. Esos parámetros, en combinación con los signos clínicos, se utilizaban para diferenciar a los pacientes que requerían hospitalización de los que podían permanecer en aislamiento domiciliario. Por lo tanto, el uso de instrumentos de hematología que combinan el análisis de la CRP y el hemograma completo a partir de la misma muestra constituía una opción lógica para un diagnóstico rápido y muchas clínicas los preferían.

La CRP es uno de los marcadores inflamatorios que permiten evaluar eficazmente la gravedad de la enfermedad. Las concentraciones elevadas de CRP se asocian con el desarrollo de una enfermedad grave y están correlacionadas con las lesiones pulmonares en las primeras fases de la COVID-19<sup>16,17</sup>. También son indicativas de un mal pronóstico en pacientes positivos para COVID-19. Por lo tanto, la CRP se utiliza como marcador para controlar la progresión de la enfermedad<sup>18</sup>.

Además de las aplicaciones descritas anteriormente, la combinación de CRP y hemograma completo desempeña un papel importante en muchas otras situaciones diagnósticas. Por ejemplo, se utiliza en el diagnóstico de la apendicitis, ya que la CRP tiene una mayor exactitud diagnóstica en los casos complicados. El diagnóstico de la apendicitis no debe basarse únicamente en la exploración clínica, sino que requiere el análisis de marcadores de inflamación más específicos y sistémicos. La combinación de CRP y el recuento de leucocitos puede mejorar el diagnóstico. El uso combinado de valores de corte para el recuento de leucocitos ( $\geq 13\ 100/\mu\text{L}$ ) y de la CRP ( $\geq 1,17\ \text{mg/L}$ ) proporciona una mayor sensibilidad para el diagnóstico de la apendicitis complicada<sup>19</sup>.

Dado que cada vez hay más estudios experimentales que apuntan a la existencia de una relación entre la inflamación y el cáncer, se han realizado varios estudios observacionales para investigar la relación entre los marcadores inflamatorios, como la CRP y los glóbulos blancos, y un mayor riesgo de cáncer. Un estudio sueco en el que participaron más de 100 000 pacientes ha aportado más indicios sobre la relación entre las concentraciones elevadas de CRP y leucocitos y el riesgo general de cáncer<sup>20</sup>. Además, la CRP y el recuento de leucocitos pueden ser predictores pronósticos duales en casos de tumores sólidos y neoplasias hematológicas<sup>21</sup>.

Las pruebas de diagnóstico de las enfermedades autoinmunes son otro campo en el que se necesitan hemogramas completos y otros marcadores inflamatorios, como la CRP. Las enfermedades autoinmunes pueden ser difíciles de reconocer y diagnosticar, ya que suelen afectar a distintos órganos y causar signos clínicos y síntomas muy variables cuya gravedad puede cambiar con el tiempo. Para el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes suelen emplearse análisis de sangre que indiquen la presencia de inflamación. Un hemograma completo puede mostrar hallazgos característicos, como la anemia normocítica normocrómica, que indica la cronicidad o gravedad de la enfermedad, y un aumento o disminución del recuento de plaquetas y/o leucocitos. En combinación con la CRP, permite obtener información detallada sobre una inflamación en curso<sup>22</sup>.

Este resumen demuestra que la combinación de los marcadores de CRP y el hemograma completo es necesaria y beneficiosa para el diagnóstico de muchas enfermedades diferentes. Sin embargo, el flujo de trabajo tradicional para analizar estos marcadores en diferentes plataformas de diagnóstico no es sencillo y suele retrasar la toma de decisiones sobre el tratamiento.

### **HumaCount 5D<sup>CRP</sup>: la solución ideal 2 en 1 para el diferencial en 5 partes y la CRP a partir de una gota de sangre**

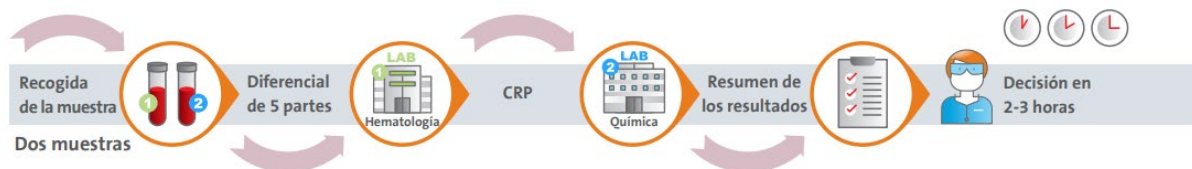
El flujo de trabajo convencional para analizar la CRP y el hemograma completo requiere bastante tiempo. Además, se necesitan dos muestras de sangre del paciente: una muestra de sangre total para el hemograma y otra muestra de suero o plasma para la CRP.

La detección de la CRP con un analizador de química clínica requiere varios pasos. En primer lugar, hay que recoger las muestras para el análisis por lotes, luego centrifugarlas, colocarlas en el analizador y, por último, combinar los resultados de las pruebas de hematología y CRP. Pueden pasar varias horas antes de que el médico pueda tomar una decisión sobre el tratamiento.

El HumaCount 5D<sup>CRP</sup> se presenta como una alternativa a este proceso, puesto que ofrece un flujo de trabajo optimizado que combina el análisis de la CRP y el hemograma completo a partir de una única muestra de sangre. El sistema proporciona resultados rápidos en solo 1,5 minutos para un diagnóstico

y una planificación del tratamiento oportunos. Esto aumenta la eficacia y ahorra costes, puesto que elimina la necesidad de realizar pruebas adicionales. Además, la combinación de estas pruebas resulta especialmente útil para diferenciar entre infecciones bacterianas y víricas y puede ayudar a combatir el problema sanitario mundial de la resistencia a los antimicrobianos, ya que contribuye a evitar las prescripciones de antibióticos cuando estos no son necesarias.

### El flujo de trabajo convencional es lento



### Resultados rápidos que permiten tomar decisiones terapéuticas inmediatas



Flujo de trabajo optimizado con HumaCount 5D<sup>CRP</sup>

### Mejora de la eficiencia y la calidad del análisis clínico

La combinación del hemograma completo y el análisis de CRP proporciona información de gran valor clínico que permite tomar decisiones médicas más rápidas y precisas a fin de reducir el tiempo de hospitalización y los costos del paciente. Además, la extracción de sangre es fácil e indolora para el paciente, ya que consiste en una simple extracción de sangre capilar.

La tecnología OptimalCount, que solo requiere 20 µl de sangre capilar, garantiza la corrección de las proporciones de dilución mediante la dispensación automática de diluyente y realiza un recuento de ~3000 células. Esta combinación de factores da lugar a una gran exactitud que normalmente solo es posible con muestras de sangre venosa.

Este método analítico con sangre capilar directa supondrá un enorme beneficio para los pacientes de clínicas pediátricas y salas de maternidad. También puede ser útil para cualquier paciente con venas frágiles, por ejemplo, ancianos, pacientes sometidos a quimioterapia o personas con miedo a las agujas. Los médicos pueden diferenciar con mayor facilidad entre las infecciones víricas y bacterianas gracias a la mejora del diagnóstico. Además, los pacientes con infecciones respiratorias suelen esperar que el médico les recete antibióticos, incluso cuando la enfermedad podría estar causada por una infección vírica en la que los antibióticos son inútiles. Con el HumaCount 5D<sup>CRP</sup>, la combinación de CRP y CBC proporciona un diagnóstico claro, y los resultados también pueden utilizarse para explicar al paciente por qué puede que los antibióticos no estén indicados. Al ocupar poco espacio y no necesitar un ordenador externo, la unidad puede instalarse en una consulta médica incluso si hay limitaciones de espacio.



El HumaCount 5D<sup>CRP</sup> también podría ser un complemento útil en alas de hospitales, para controlar rápidamente el estado de salud de los pacientes sin necesidad de enviar una muestra al laboratorio central y esperar a que lleguen los resultados. Lo mismo ocurre en situaciones en las que es fundamental tomar decisiones rápidas, como en urgencias o en la unidad de cuidados intensivos.

## Conclusión y perspectivas

En resumen, el HumaCount 5D<sup>CRP</sup>, con su combinación única de hemograma completo junto con la CRP, es un complemento útil para una amplia gama de usos diagnósticos y puede resultar beneficioso para muchos tipos diferentes de usuarios. Es el sistema ideal no solo para el diagnóstico rápido, sino también para el seguimiento de enfermedades agudas y crónicas, el control de infecciones, la eficacia de los antibióticos y el seguimiento del tratamiento del paciente.

## Bibliografía

- 1) [www.testing.com/tests/complete-blood-count-cbc/](http://www.testing.com/tests/complete-blood-count-cbc/) Accessed September 19, 2023
- 2) <https://www.testing.com/tests/c-reactive-protein-crp/> Accessed September 19, 2023
- 3) Thomas, L. C-reaktives Protein (CRP) In: Prof. Dr. Lothar Thomas, Kirschbaumweg 8, 60489 Frankfurt (ed.) *Labor und Diagnose 2020*. Chapter 19.4. Accessed September 19, 2023. <https://www.labor-und-diagnose-2020.de>
- 4) De Sutter A, Lemiengre M, Van Maele G, van Driel M, De Meyere M, Christiaens T, De Maeseneer J. Predicting prognosis and effect of antibiotic treatment in rhinosinusitis. *Ann Fam Med*. 2006 Nov-Dec;4(6):486-93. doi: 10.1370/afm.600. PMID: 17148625; PMCID: PMC1687172.
- 5) Hopstaken RM, Stobberingh EE, Knottnerus JA, Muris JW, Nelemans P, Rinkens PE, Dinant GJ. Clinical items not helpful in differentiating viral from bacterial lower respiratory tract infections in general practice. *J Clin Epidemiol*. 2005 Feb;58(2):175-83. doi: 10.1016/j.jclinepi.2004.08.004. PMID: 15680752.
- 6) Macfarlane J, Holmes W, Gard P, Macfarlane R, Rose D, Weston V, Leinonen M, Saikku P, Myint S. Prospective study of the incidence, aetiology and outcome of adult lower respiratory tract illness in the community. *Thorax*. 2001 Feb;56(2):109-14. doi: 10.1136/thorax.56.2.109. PMID: 11209098; PMCID: PMC1746009.
- 7) <https://www.cdc.gov/patientsafety/features/be-antibiotics-aware.html> Accessed September 19, 2023
- 8) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> Accessed September 19, 2023
- 9) Caldas JP, Marba ST, Blotta MH, Calil R, Morais SS, Oliveira RT. Accuracy of white blood cell count, C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha for diagnosing late neonatal sepsis. *J Pediatr (Rio J)*. 2008 Nov-Dec;84(6):536-42. English, Portuguese. doi: 10.2223/JPED.1838. PMID: 19060982.
- 10) Escadafal C, Incardona S, Fernandez-Carballo BL, Dittrich S. The good and the bad: using C reactive protein to distinguish bacterial from non-bacterial infection among febrile patients in low-resource settings. *BMJ Glob Health*. 2020 May;5(5):e002396. doi: 10.1136/bmjgh-2020-002396. PMID: 32467355; PMCID: PMC7259834.
- 11) Wilson M. Fever in returned travelers. In: Keystone J, Kozarsky PE, Freedman DO, editors. *Travel medicine*. 2nd. Philadelphia, PA: Elsevier; 2008. pp. 513–521.
- 12) Cooper EC, Ratnam I, Mohebbi M, Leder K. Laboratory features of common causes of fever in returned travelers. *J Travel Med*. 2014 Jul-Aug;21(4):235-9. doi: 10.1111/jtm.12122. Epub 2014 Apr 22. PMID: 24754384.
- 13) Wilson M. Fever in returned travelers. In: Keystone J, Kozarsky PE, Freedman DO, editors. *Travel medicine*. 2nd. Philadelphia, PA: Elsevier; 2008. pp. 513–521
- 14) Nishimura J, Dharap P, Raimbault S. The utility of basic blood counts, WBC histogram and C-reactive protein in detecting malaria. *BMC Infect Dis*. 2021 Sep 26;21(1):1006. doi: 10.1186/s12879-021-06704-5. PMID: 34565334; PMCID: PMC8474782.
- 15) Zhang J, Zhou L, Yang Y, Peng W, Wang W, Chen X. Therapeutic and triage strategies for 2019 novel coronavirus disease in fever clinics. *Lancet Respir Med*. 2020 Mar;8(3):e11-e12. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30071-0. Epub 2020 Feb 13. PMID: 32061335; PMCID: PMC7159020.
- 16) Wang L. C-reactive protein levels in the early stage of COVID-19. *Med Mal Infect*. 2020 Jun;50(4):332-334. doi: 10.1016/j.medmal.2020.03.007. Epub 2020 Mar 31. PMID: 32243911; PMCID: PMC7146693
- 17) Liu F, Li L, Xu M, Wu J, Luo D, Zhu Y, Li B, Song X, Zhou X. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol*. 2020 Jun;127:104370. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104370. Epub 2020 Apr 14. PMID: 32344321; PMCID: PMC7194648.
- 18) Malik P, Patel U, Mehta D, Patel N, Kelkar R, Akrmah M, Gabrielove JL, Sacks H. Biomarkers and outcomes of COVID-19 hospitalisations: systematic review and meta-analysis. *BMJ Evid Based Med*. 2021 Jun;26(3):107-108. doi: 10.1136/bmjebm-2020-111536. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32934000; PMCID: PMC7493072
- 19) Buyukbese Sarsu S, Sarac F. Diagnostic Value of White Blood Cell and C-Reactive Protein in Pediatric Appendicitis. *Biomed Res Int*. 2016;2016:6508619. doi: 10.1155/2016/6508619. Epub 2016 May 4. PMID: 27274988; PMCID: PMC4870336.
- 20) Van Hemelrijck M, Holmberg L, Garmo H, Hammar N, Walldius G, Binda E, Lambe M, Jungner I. Association between levels of C-reactive protein and leukocytes and cancer: three repeated measurements in the Swedish AMORIS study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Mar;20(3):428-37. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1190. Epub 2011 Feb 4. PMID: 21297038; PMCID: PMC3078551

- 21) Bruserud Ø, Aarstad HH, Tvedt THA. Combined C-Reactive Protein and Novel Inflammatory Parameters as a Predictor in Cancer- What Can We Learn from the Hematological Experience? *Cancers (Basel)*. 2020 Jul 19;12(7):1966. doi: 10.3390/cancers12071966. PMID: 32707721; PMCID: PMC7409204
- 22) Castro C, Gourley M. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S238-47. doi: 10.1016/j.jaci.2009.09.041. Epub 2010 Jan 12. PMID: 20061009; PMCID: PMC2832720.

## **Sobre HUMAN**

Fundada en 1972, HUMAN es uno de los actores globales de la industria del diagnóstico in vitro desde hace más de 50 años.

Su cartera de productos abarca desde la química clínica tradicional hasta métodos innovadores de diagnóstico molecular, además de otras soluciones especiales, como ensayos para pruebas de autoinmunidad.

Gracias a su capacidad de servicio técnico y distribución en todo el mundo y a una amplia red de distribuidores con los que colabora desde hace décadas, HUMAN presta asistencia a laboratorios médicos de más de 160 países y es un socio reconocido de numerosas organizaciones gubernamentales y no gubernamentales.

HUMAN tiene su sede central en Wiesbaden, Alemania, y cuenta con oficinas regionales de ventas en los Emiratos Árabes Unidos, Singapur, China, India y Panamá. También dispone de representantes locales en muchos otros países.

Como empresa responsable y orientada al futuro, la sostenibilidad es un asunto de especial importancia para HUMAN. Por ello, ha establecido un sistema de gestión medioambiental certificado que cumple los requisitos de la norma internacional ISO 14001 y la directiva europea EMAS.