



NÚCLEO BÁSICO  
Revistas Científicas Argentinas

ByPC

ASOCIACIÓN  
BIOQUÍMICA  
ARGENTINA



# Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación  
Bioquímica Argentina

Vol. 85 - Nº3  
Sep - Dic de 2021

Ciudad de Bs. As. Argentina  
ISSN 1515-6761 Ed. Impresa  
ISSN 2684-0359 Ed. electrónica

## Variantes del SARS-CoV-2

Los virus de ARN, como el SARS-CoV-2, tienen altas tasas de mutación y solo persisten las que no interfieren con las funciones esenciales del virus. La recombinación ocurre cuando los virus intercambian información genética y se genera un nuevo virus. Una variante se origina cuando el virus tiene una o más mutaciones y se comporta diferente al original.



## SUMARIO

## EDITORIAL

- Pág. 20 **Evolucionar**  
*Evolve*  
Albrecht, Andres.

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- Pág. 21 **Subclases de inmunoglobulinas G más frecuentes en pacientes con diagnóstico de gammapatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM) en relación con su cadena liviana acompañante**  
*Subclasses of the most frequent G immunoglobulins in patients diagnosed with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and multiple myeloma (MM) in relation to their accompanying light chain*  
Cocucci, Silvina Ema; Baigorria, Laura; Osatinsky, Raquel.

- Pág. 26 **Estado del arte en el área de proteínas. Resultados de la encuesta realizada por el Foro de Proteínas desde octubre de 2018 a marzo de 2019 en Argentina**  
*State of the art in the protein study field. Results of the survey carried out by the protein forum from October 2018 to March 2019 in Argentina*  
Acastello, Nélica Esther; Arco, Silvia Estela; Baquío, María Isabel; Bovone, Nora Silvia; Crispiani, Isabel Amalia; De Marco, Beatriz; Desimone, Isabel Viviana; Factorovich, Adriana Marcela; Fernandez, Diego Javier; García, Mónica Alicia; Giani, Miriam Patricia; Lorenzon, María Victoria; Lunazzi, Graciela; Madalena, Leticia Bibiana; Nievez, Luciano David; Osatinsky, Raquel; Pijuan, María Carla; Ríos, María de Lourdes; Santoro, Silvina Andrea; Tavella de Del Río, Ofelia.

- Pág. 32 **Metaloproteínas transportadoras de hierro en plasma seminal y su posible función como moléculas reguladoras del metabolismo espermático**  
*Iron-binding metalloproteins in seminal plasma and their possible function as regulatory molecules of sperm metabolism*  
Brufman, Adriana; Brunori, Magalí; Raspo, Esteban.

- Pág. 39 **Biomarcadores en el síndrome metabólico y su correlación con la osteocalcina sérica**  
*Biomarkers in metabolic syndrome and their correlation with serum osteocalcin*  
Benhaim, Marcela Estela; López, Susana Verónica; Pengue, Claudia; Pugliese, Osvaldo Alberto; Canella, Viviana Guadalupe.

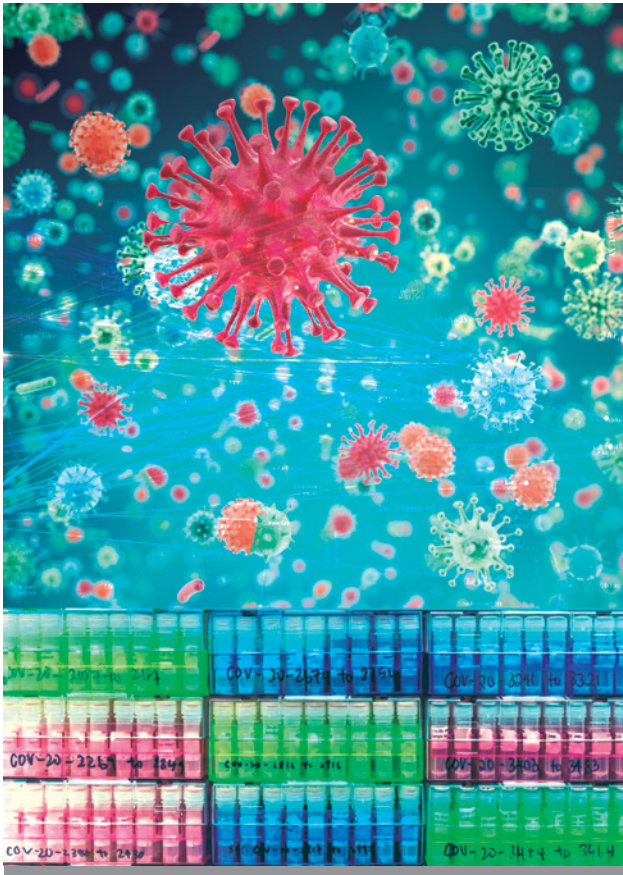
- Pág. 44 **Comparación de dos métodos para la determinación de anticuerpos anti Trypanosoma cruzi incorporando un sistema documental**  
*Comparison of two methods for the determination of anti-Trypanosoma cruzi antibodies incorporating a Documentary System*  
Mamani, Jorgelina Inés; Bilbao, Liliana; Collino, Cesar Juan Gerardo.

## GUÍA DE RECOMENDACIÓN

- Pág. 51 **Recomendaciones para el uso de biomarcadores en el paciente con COVID-19. Primera parte**  
*Recommendations for the use of biomarkers in COVID-19 patients. First part*  
Raimondi, Rosana Andrea; Quattrocchi, Gabriela; Jacquier, Graciela Beatriz.

## PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

- Pág. 59 Cursos A.B.A - Ciclo Lectivo 2021



### Proyecto PAIS

Desarrollado por el Consorcio Argentino de Genómica de SARS-CoV-2 y financiado a través del subsidio FONARSEC IP COVID-19 N° 247 por la Agencia Nacional de la Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, Argentina, está conformado por grupos de investigación de diferentes instituciones con el objetivo de secuenciar el genoma y realizar demás estudios genómicos del SARS-CoV-2. Se encuentra coordinado por la Dra. Mariana Viegas del Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez. El equipo trabaja articulada y colaborativamente para realizar estudios genómicos de SARS-CoV-2 en nuestro país y aportar tanto al conocimiento local como a la base de datos global de circulación viral GISAID. Entre sus objetivos, se encuentran la secuenciación de los genomas circulantes de SARS-CoV-2 en distintas regiones de nuestro país, el análisis a gran escala de secuencias, ensamblado de genomas, análisis filogenéticos y filogeográficos, epidemiología y evolución molecular. Con alrededor de 24 reportes, el Proyecto País, desde el inicio de pandemia hasta la fecha, ha secuenciado y caracterizado más de 1000 genomas virales de SARS-CoV-2 y ha obtenido más 890 secuencias parciales de *spike*.

## TAPA

### Variantes del SARS-CoV-2

En la medida en que los virus se replican, se encuentran continuamente cambiando su genoma como resultado de la selección genética, presentando cambios genéticos menores por mutación y cambios genéticos importantes por recombinación. Los virus de ARN (como es el caso del coronavirus SARS-CoV-2) tienen altas tasas de mutación, hasta un millón de veces más altas que sus huéspedes. Solo las mutaciones que no interfieren con las funciones esenciales del virus pueden persistir. La recombinación ocurre cuando los virus coinfectados intercambian información genética y como resultado crean un nuevo virus.

Una variante se denomina “cepa” cuando muestra propiedades físicas distintas. Una cepa es una variante que se construye de manera diferente y, por lo tanto, se comporta de manera diferente del virus que la origina.

Entre las posibles consecuencias de la aparición de variantes genéticas se encuentra el incremento en la capacidad de propagarse más rápidamente en las personas, causar una enfermedad más leve o grave, evadir la detección mediante pruebas diagnósticas virales específicas, disminuir la susceptibilidad a agentes terapéuticos como los anticuerpos monoclonales y evadir la inmunidad natural o inducida por vacunas. Los virus evolucionan rápidamente para asegurar su replicación y persistencia en un huésped o población susceptible.

En los últimos años, los datos de las secuencias genéticas de los patógenos han adquirido un papel crucial en la detección y el manejo de los brotes de enfermedades infecciosas, contribuyendo al desarrollo de pruebas diagnósticas, medicamentos y vacunas y orientando la respuesta sanitaria. La secuenciación permite detectar cambios en el genoma que pueden alterar las características de la infección vírica.

En el SARS-CoV-2, ciertos cambios genéticos (poco frecuentes) pueden provocar modificaciones que le proporcionan una ventaja selectiva como una mayor transmisibilidad, la capacidad de producir cuadros clínicos más severos, la evasión de la respuesta inmune neutralizante generada tras una infección previa o posterior a la vacunación, la afectación de la efectividad de los medicamentos utilizados para el tratamiento de COVID-19, los medios de diagnóstico u otras medidas de salud pública y social. Detectar esos cambios y demostrar su repercusión constituye un desafío.

Desde la primera identificación del SARS-CoV-2, se han registrado más de 280000 secuencias genómicas completas en bases de datos de acceso público. La inmediatez del análisis de los datos ha repercutido en gran medida en la respuesta de la salud pública. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en colaboración con redes de expertos, autoridades nacionales, instituciones e investigadores, ha estado vigilando la evolución

del SARS-CoV-2, para que, en caso de detectarse mutaciones de importancia, se pueda informar a los países y a la población oportunamente sobre cómo dar respuesta ante la nueva variante y prevenir su propagación.

La aparición de variantes que suponían un mayor riesgo para la salud pública mundial a finales de 2020 motivó a utilizar categorías específicas denominadas “variantes de interés” (VOI) y “variantes de preocupación” (VOC), con el fin de priorizar el seguimiento y la investigación, y orientar la respuesta a la pandemia.

### Denominación de las variantes del SARS-CoV-2

Se han desarrollado diferentes sistemas para nombrar y rastrear los linajes genéticos del SARS-CoV-2 y otros virus como la *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), que ha descrito hasta ahora 8 clados globales, o la plataforma *Nextstrain*, que analiza la epidemiología molecular del SARS-CoV-2 y proporciona una colección de herramientas de código abierto para visualizar la genética. En ella se han identificado hasta ahora 11 clados principales. Otra iniciativa es *Pango*, un sitio web que documenta los linajes actuales y su propagación y que cuenta con varias herramientas de *software* para realizar análisis en los datos de las secuencias. Con el fin de contribuir a los debates públicos sobre las variantes, se simplificó la denominación para las VOI y las VOC utilizando etiquetas basadas

en el alfabeto griego.

Una variante viral se considera VOI, si tiene cambios fenotípicos en comparación con un aislamiento de referencia y si se ha identificado que causa transmisión comunitaria, múltiples casos o *clusters* de casos de la COVID-19 o se ha detectado en varios países. Estas mutaciones están asociadas con cambios en la unión con los receptores celulares, una reducción en la neutralización mediada por anticuerpos y un aumento en la transmisibilidad o en la severidad de la enfermedad (aumento en las hospitalizaciones y/o muertes).

Una variante del SARS-CoV-2 se considera VOC si, a través de una evaluación comparativa, se ha demostrado que está asociada con un aumento de la transmisibilidad o cambio perjudicial en la epidemiología de la COVID-19; a un aumento de la virulencia o cambio en la presentación clínica de la enfermedad y a una disminución de la eficacia de las medidas sociales y de salud pública o de los diagnósticos, vacunas y terapias disponibles.

### Variantes de interés y de preocupación más relevantes

El 12 de julio de 2021, el Ministerio de Salud de la Nación emitió una alerta epidemiológica ante la detección de 9 nuevos casos de variante Delta en viajeros internacionales, quienes, en su mayoría, presentaron resultados negativos al ingreso y se detectaron como positivos en los días posteriores.

WHO label	Pango lineage	GISAID clade	Nextstrain clade	Earliest documented samples	Date of designation
Variants of Concern (VOCs)					
Alpha	B.1.1.7	GRY (formerly GR/501Y.V1)	20I (V3)	United Kingdom Sep-2020	18/Dec/2020
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	South Africa May-2020	18/Dec/2020
Gamma	P.1	GR7501Y.V3	20J (V3)	Brazil Nov-2020	11/Jan/2021
Delta	B.1.617.2	G/478K.V1	21A	India Oct-2020	VOI:4/Apr/2021 VOC:11/May/2021
Variants of interest (VOIs)					
Epsilon	B.1.427 B.1.429	GH/452R.V1	21C	United States of America Mar-2020	5/Mar/2021
Zeta	P.2	GR/484k.V2	20B/S.484K	Brazil Apr-2020	17/Mar/2021
Eta	B.1.525	G/484K.V3	21D	Multiple countries Dec-2020	17/Mar/2021
Theta	P.3	GR/1092K.V1	21E	Philippines Jan-2021	24/Mar/2021
Lota	B.1.526	GH/253G.V1	21F	United States of America Nov-2020	24/Mar/2021
Kappa	B.1.617.1	G/452R.V3	21B	India Oct-2020	4/Apr/2021
Lambda	C.37	GR/452Q.V1	20D	Peru Aug-2020	14/Jun/2021

VOL. 83 - Nº2  
 May - Ago. de 2019  
 Ciudad de Bs. As. Argentina  
 ISSN 1515-6761 Ed. impresa  
 ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM

## Bioquímica y Patología Clínica



Michael W. Young, Jeffrey C. Hall y Michael Rosbash son los investigadores estadounidenses que han sido galardonados con el Premio Nobel de Medicina 2017, por sus descubrimientos acerca de los mecanismos moleculares que controlan los ritmos circadianos.

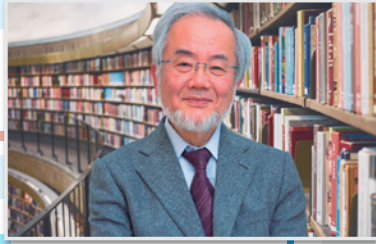


Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.  
 Publicación cuatrimestral.



VOL. 83 - Nº3  
 Sep. - Dic. de 2019  
 Ciudad de Bs. As. Argentina  
 ISSN 1515-6761 Ed. impresa  
 ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM

## Bioquímica y Patología Clínica



Galardonado con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2016, Yoshinori Ohsumi desvela los mecanismos genéticos y moleculares de la macroautofagia. El término autofagia fue acuñado en el año 1963 y comprende tres procesos: la microautofagia, la macroautofagia y autofagia mediada por chaperonas.



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.  
 Publicación cuatrimestral.



VOL. 84 - Nº1  
 Ene. - Mar. de 2020  
 Ciudad de Bs. As. Argentina  
 ISSN 1515-6761 Ed. impresa  
 ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM

## Bioquímica y Patología Clínica



Los estadounidenses William Kaelin, Gregg Semenza y el británico Sir Peter Ratcliffe premios Nobel de Medicina por su investigación sobre los mecanismos moleculares que subyacen en la forma en que las células se adaptan a las variaciones en el suministro de oxígeno.

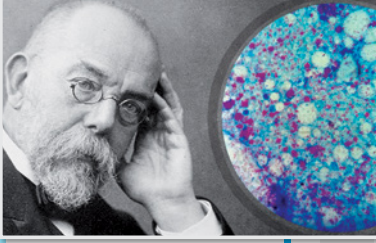


Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.  
 Publicación cuatrimestral.



VOL. 84 - Nº2  
 May - Ago. de 2020  
 Ciudad de Bs. As. Argentina  
 ISSN 1515-6761 Ed. impresa  
 ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM

## Bioquímica y Patología Clínica



Heinrich Hermann Robert Koch fue un médico y microbiólogo alemán cuya labor científica llegó a la fama al descubrir el bacilo de la tuberculosis en 1882, el del cólera, en 1883 y también, por el desarrollo de los postulados de Koch. Es considerado el fundador de la Bacteriología y recibió el Premio Nobel de Medicina en 1905.

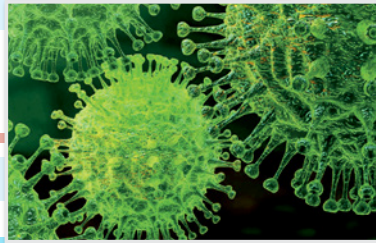


Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.  
 Publicación cuatrimestral.



Vol. 84 - Nº3  
 Sep. - Dic. de 2020  
 Ciudad de Bs. As. Argentina  
 ISSN 1515-6761 Ed. impresa  
 ISSN 2684-0359 Ed. electrónica

## Bioquímica y Patología Clínica



SARS-CoV-2 representa, según los análisis de las secuencias genómicas, como los demás coronavirus humanos, un nuevo caso de zoonosis, es decir, una infección producida a través de un "salto de especie" del patógeno desde otra especie animal a la nuestra.



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.  
 Publicación cuatrimestral.



Vol. 85 - Nº1  
 Enero - Abril de 2021  
 Ciudad de Bs. As. Argentina  
 ISSN 1515-6761 Ed. impresa  
 ISSN 2684-0359 Ed. electrónica

## Bioquímica y Patología Clínica



La francesa Emmanuelle Charpentier y la estadounidense Jennifer Doudna recibieron el 7 de octubre de 2020 el prestigioso Premio Nobel de Química por el desarrollo de un método para secuenciar y modificar los genes que "abren la puerta" a la cura de enfermedades hereditarias.



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina.  
 Publicación cuatrimestral.



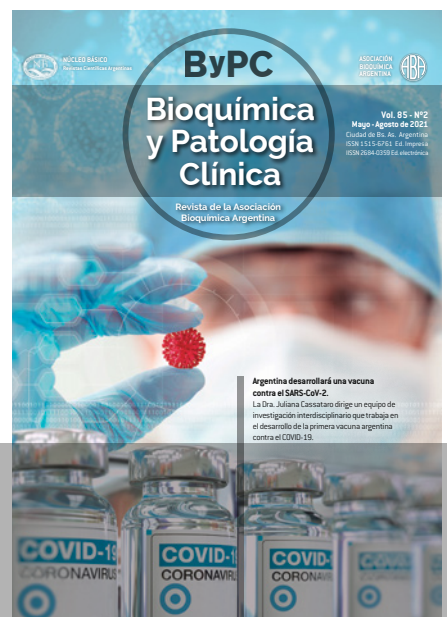
# ByPC

## Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación Bioquímica Argentina

Renovamos el diseño para adaptarnos a los tiempos actuales, los nuevos lectores, las exigencias de lectura y seguir estando a la altura de publicaciones científicas del mismo nivel.

ByPC sep-dic 2021; 85(3) // ISSN-e 2684-0359



COMISIÓN DE  
LA REVISTA**Director:****Dr. Fernando D. Brites**

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Secretaría Científica:****Dra. Fabrina Capecce**

Hospital General de Niños Pedro Elizalde. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Comité Editorial:****Dr. Orlando Gabriel Carballo**

Hospital General de Agudos Carlos G. Durand. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Dra. Isabel Desimone**

Hospital Interzonal General de Agudos Evita, Lanús, provincia de Buenos Aires. Universidad Kennedy, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Dr. Jaime Kovensky**

Hospital Dr. Arturo Umberto Illia, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Carrera de Medicina, Universidad Nacional de la Matanza, provincia de Buenos Aires, Argentina.

**Dr. Julián Verona**

Hospital Municipal Subzonal Dr. Felipe Fossati. Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina.

**Lic. Débora Schmer Miranda** [Español]**Lic. María Victoria González Eusevi** [Inglés]**Secretarios Administrativos:****Sr. Gastón Goldberg****Sr. Jorge Signorelli**ASOCIACIÓN  
BIOQUÍMICA  
ARGENTINAFundada el 3 de  
septiembre  
de 1934**COMISIÓN DIRECTIVA**

Presidente: Dra. Silvia B. González

Vicepresidente: Dra. Patricia Otero

Secretaria: Dra. Viviana Osta

Tesorera: Dra. Isabel Desimone

1º Vocal Titular: Dra. María José Rial

2º Vocal Titular: Dr. Eduardo Mormandi

3º Vocal Titular: Dra. María Rugiero

1º Vocal Suplente: Dr. Alberto Villagra.

2º Vocal Suplente: Dra. M. de la Paz

Domínguez

3º Vocal Suplente: Dra. Alejandra Svartz

**COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS**

Titular 1º: Dra. Silvia Morilla

Titular 2º: Dra. Estella Meyer

Titular 3º: Dra. Silvia Cajiao

1º Vocal Suplente: Dra. Graciela Astarita

2º Vocal Suplente: Dra. Claudia Ayuso

**COMISIONES INTERNAS****Prensa y Difusión**

Presidente: Dra. Rocío Romero

Secretaria: Dra. Florencia Minotti

Vocales: Dr. Eduardo Mormandi

Dra. Fabrina Capecce

**Certificación**

Presidente: Dr. Alberto Villagra

Secretaria: Dra. Viviana Osta

Vocal: Dra. María José Rial

**Cursos**

Presidente: Dra. Silvia González

Secretaria: Dra. María Soledad Caldirola

Vocales: Dra. María José Rial

Dra. María de la Paz Domínguez

Dra. Alejandra Svartz

Dra. Liliana Maggi

Dra. Rocío Romero

Dra. Laura Colito

**Comité Científico Asesor**

Dra. Mónica Aixalá

Dr. Gloria Alvarez

Dra. Liliana Arias

Dra. Alicia Blanco

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Dra. Silvia González

Dr. César Colino

Dr. Eduardo Mormandi

Dra. Raquel Osatinsky

Dr. Jorge Rey

Dra. María José Rial

Dra. Sandra Rozental

Dra. Gabriela Santiso

Dra. Nora Slobodianik

**Premios y distinciones**

Dra. Alicia Blanco

Dr. Fernando Brites

Dra. Nilda Fink

Dr. Néstor Litwin

Dra. Raquel Osatinsky

# REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

## REVISTA BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA

### ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

Bioquímica y Patología Clínica (ByPC), Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, tiene el objetivo de difundir artículos inéditos y originales relacionados con aplicaciones de la bioquímica clínica en todas sus especialidades en el campo asistencial y de investigación clínica humana, así como en bioquímica animal y vegetal. ByPC está destinada a todos los profesionales de la salud interesados en estas áreas. ByPC se publica cuatrimestralmente en ambos formatos, impreso [ISSN 1515-6761] y electrónico [ISSN 2684-0359], sin costo para los autores y no posee propósitos comerciales.

#### La Comisión de Revista de ByPC está integrada de la siguiente manera:

##### Director:

Dr. Fernando D. Brites

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

##### Secretaria Científica:

Dra. Fabrina Capece

Hospital Pedro Elizalde, Ciudad de Buenos Aires. Ministerio de Salud. Buenos Aires, Argentina.

##### Comité Editor:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Hospital Carlos G. Durand. Instituto Universitario Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Dra. Isabel Desimone

Hospital Evita, Lanús, provincia de Buenos Aires. Universidad John F. Kennedy. Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Hospital Arturo U. Illia, Ciudad de Buenos Aires. Universidad Nacional de la Matanza, provincia de Buenos Aires, Argentina.

Dr. Julián Verona

Hospital Dr. Felipe A. Fossati, provincia de Buenos Aires, Argentina.

##### Correctoras:

Lic. Débora Schmer Miranda [Español]

Lic. María Victoria González Eusevi [Inglés]

##### Secretarios Administrativos:

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

Los trabajos enviados a la Revista ByPC deben ser originales y no deben haber sido publicados o estar postulados simultáneamente en otras revistas u órgano de difusión científica nacional o extranjero, tanto en forma impresa como electrónica. Cabe mencionar que se encuentra absolutamente prohibido la copia textual de texto proveniente de otros artículos y para la detección de plagio la Revista utiliza el software plag.es. Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos del International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) disponible en <http://www.icmje.org>. Se pueden consultar guías para publicaciones en <http://www.equator-network.org>, en castellano en <http://www.espanol.equator-network.org>. Una vez aprobada la publicación del trabajo, ByPC retiene los derechos de su reproducción total o parcial. Quienes deseen reproducir material publicado en la revista deben solicitar permiso a ByPC. Igualmente, para incluir material de otras fuentes con derechos de autor en artículos a publicar en la revista, se debe obtener el correspondiente permiso, y adjuntar copia del mismo al artículo propuesto para publicación. Para mayor información respecto a los derechos de los autores, se recomienda consultar el documento disponible en: <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>

#### 1. Descripción del proceso de revisión y edición

La modalidad de revisión es por pares académicos a doble ciego. Específicamente, la Comisión de Revista realiza una primera evaluación del trabajo recibido y lo envía a 2 revisores ajenos a la Asociación Bioquímica Argentina, quienes deben ser especialistas reconocidos en el área de incumbencia del trabajo y no deben pertenecer a la misma institución de los autores ni guardar alguna relación conocida con los mismos. Los artículos son enviados a los revisores sin el nombre de los autores, lugar de trabajo, dirección de correspondencia, ni los agradecimientos. Los revisores reciben el trabajo completo acompañado de un formulario guía para la realización de la revisión con tópicos que la Comisión de Revista considera imprescindibles para elaborar el dictamen final. La evaluación efectuada por los revisores debe ser remitida a la Comisión de Revista dentro de los 30 días. El dictamen de los revisores es reservado, así como su identidad, y debe fundamentarse de modo explícito. En caso de discrepancia en el dictamen de los revisores, la Comisión de Revista acudirá a un tercer revisor que cumpla los mismos requisitos que los anteriores. El dictamen es decidido por la Comisión de Revista y es comunicado a los autores. Los resultados del dictamen pueden ser: a) Aceptación sin necesidad de modificaciones adicionales; b) Sugerencia de cambios mayores; c) Sugerencia de cambios menores; y d) Rechazo. Las críticas efectuadas al trabajo, así como un eventual rechazo deben estar debidamente justificados. Los resultados de la evaluación son inapelables. Los autores deberán responder a las sugerencias efectuadas en un plazo no mayor a 30 días, salvo que por la naturaleza de las mismas se requiera de más tiempo. En dicho caso, deberán solicitarlo específicamente al Comisión de Revista.

Una vez que el trabajo ha sido aceptado y se ha efectuado la comunicación a los autores, se procede a la corrección de estilo y ortográfica del mismo, tanto en castellano como en inglés. A continuación, se elabora la prueba de galera, la cual es enviada a los autores, junto con instrucciones para efectuar la corrección de la misma. Los autores cuentan con 5 días hábiles para devolver la prueba de galera corregida.

Posteriormente se procede a la publicación del artículo siendo el auto-archivo posible inmediatamente después (versión post-print corregida). El tiempo transcurrido entre la aceptación del trabajo y la publicación del mismo oscila entre 3 y 5 meses.

#### 2. Requisitos para la remisión de manuscritos

- Doble espacio en todas las partes del manuscrito.
- Empezar cada sección o componente en una nueva página.
- Revisar la secuencia: título; autores; lugares de trabajo; datos del autor de correspondencia; resumen y palabras clave en castellano; título, resumen y palabras clave en inglés americano; introducción; materiales y métodos; resultados; discusión; agradecimientos, referencias bibliográficas, leyendas de las figuras; tablas; y figuras (cada uno en páginas separadas).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm.
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar ilustraciones que pueden identificar a las personas.
- Incluir las transferencias de derechos de autor y otras solicitudes.

#### 3. Carta

Carta dirigida al Director de la Revista en la cual se solicita la publicación del artículo. Debe contener el título del trabajo, categoría a la cual pertenece (ver ítem 4), nombre y apellido de todos los autores, dirección, teléfonos y dirección de e-mail del autor de contacto, una dirección de e-mail alternativa, una frase con valor de declaración jurada en la que se manifieste que el artículo cumple con todos los requisitos de publicación en ByPC, y que la última versión del manuscrito ha sido leída y aprobada por todos los autores. La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista ByPC: <http://revista.aba-online.org.ar/>. No se aplicarán cargos por el envío de artículos ni por procesamiento (APC).

Cualquier duda podrá despejarse ingresando al instructivo o solicitar asistencia a: revista@aba.online.org.ar o revistabypc.aba@gmail.com.

#### 4. Categorías a las cuales deberán ser presentados los trabajos

- Artículos originales.
- Casos clínicos.
- Revisiones.
- Cartas al Editor.
- Informes.
- Guías o Consensos.

#### 5. Preparación de los manuscritos

##### 5.1. Generalidades:

El archivo deberá ser nombrado solamente con el apellido del primer autor y la leyenda "y col." si correspondiese (Ej.: Pérez y col). El texto debe estar dividido en secciones con los títulos de Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los artículos extensos pueden requerir subtítulos dentro de algunas secciones (especialmente en las secciones de Resultados y Discusión) para aclarar sus contenidos. Debe estar escrito en procesador de texto Word, en tamaño de página A4, con márgenes de al menos 25 mm, empleando letra Arial tamaño 12. Usar doble espacio, incluyendo la página del título, resumen, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas, tablas individuales y leyendas. Numerar las páginas consecutivamente empezando con la página del título. Poner el número de la página en la esquina inferior derecha de cada página.

##### 5.2. La primera página debe contener:

- El título que debe ser conciso pero informativo.
- El apellido y luego, separado por coma, los nombres completos de los autores, lo cual debe ir seguido de punto y coma, y los datos del siguiente autor. A continuación del nombre de cada autor, se debe colocar, a modo de superíndice, el número que haga referencia al lugar de trabajo al que pertenece dicho autor. El autor al cual debe ir dirigida la correspondencia debe ser destacado con un asterisco también a modo de superíndice [Ej.: Ramírez, Juan Carlos<sup>1\*</sup>; Benítez, Laura<sup>2</sup>; Romero, Mario<sup>3</sup>].
- Cada lugar de trabajo con el número asignado al autor correspondiente. No se deben emplear abreviaturas. Debe constar primero el nombre del servicio o laboratorio, luego el correspondiente al departamento y por último el de la institución, todo separado por comas y seguido de punto. A continuación, se debe incluir el nombre de la ciudad, la provincia y el país, también separados por comas y con punto final [Ej.: Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina].
- Nombre completo del autor responsable de recibir la correspondencia, su lugar de trabajo, la dirección postal, y la dirección de e-mail.

##### 5.3. La segunda página debe contener:

- El resumen en castellano de no más de 250 palabras. Debe estar estructurado de la siguiente manera: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones. Se deben incluir dichos subtítulos de manera explícita. El resumen debe establecer los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y analíticos), los hallazgos principales y las conclusiones más relevantes. Debería enfatizarse en los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Se recomienda incluir los valores correspondientes a los hallazgos más relevantes acompañados de la forma de expresión de los mismos [Ej.: Media  $\pm$  D.E) y el tratamiento estadístico, si correspondiese. En el resumen no se deben utilizar abreviaturas.

- Palabras clave. Los autores deben colocar, e identificar como tales, tres a diez palabras clave o frases cortas que servirán para la indexación cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

##### 5.4. La tercera página debe contener:

- Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.
- Resumen en inglés americano (Abstract). Debe cumplir los mismos requisitos que el resumen en castellano e incluir los siguientes subtítulos: *introduction, objectives, materials and methods, results y conclusions*.
- Palabras clave en inglés americano (Key words). Deben cumplir los mismos requisitos que las palabras clave en castellano.

##### 5.5. Las páginas subsiguientes, comenzando cada sección en página aparte, deben contener:

- Introducción. En la introducción, se debe expresar el contexto o los antecedentes del estudio (por ejemplo, la naturaleza del problema y su importancia) y enunciar el propósito específico u objetivo de la investigación o la hipótesis que se pone a prueba en el estudio u observación. A menudo, la investigación se centra con más claridad cuando se plantea como pregunta. Tanto los objetivos principales como los secundarios deberán estar claros, y deberá describirse cualquier análisis de subgrupos predefinido. Se deben incluir sólo las referencias que sean estrictamente pertinentes y no añadir datos o conclusiones del trabajo que se presenta.
- Materiales y Métodos. Debe describir detalladamente los sujetos experimentales, el equipamiento, los reactivos y los procedimientos utilizados, con la inclusión de las marcas registradas cuando corresponda y referencias al utilizar métodos establecidos. Indicar las consideraciones éticas que correspondan si han participado en el estudio seres humanos (Aprobación por comités de ética y obtención de consentimiento informado). Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descriptos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados (como los intervalos de confianza). Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores P, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos clásicos (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el *software* utilizado.
- Resultados. Presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica en el texto, tablas e ilustraciones, y destacando en primer lugar los hallazgos más importantes. No repetir en el texto los datos de las tablas o ilustraciones; resaltar o resumir sólo las observaciones más importantes. Los materiales extra o suplementarios y los detalles técnicos pueden situarse en un anexo donde se puedan consultar para no interrumpir la secuencia del texto. Cuando los datos se resumen en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentarse los derivados (por ejemplo, porcentajes), sino también los valores absolutos a partir de los cuales se calcularon, y especificar los métodos estadísticos utilizados para analizarlos. Limitar el número de tablas y figuras a las estrictamente necesarias para ilustrar el tema del artículo y para evaluar su grado de apoyo. Usar gráficos como alternativa a las tablas con muchas entradas; no duplicar datos en los gráficos y tablas. Evitar usos no técnicos de términos

estadísticos, como “azar” (que implica un dispositivo de aleatorización), “normal,” “significativo,” “correlaciones” y “muestra”. Cuando sea científicamente adecuado, incluir análisis en función de variables como la edad y el sexo.

- d) **Discusión.** Destacar los aspectos más novedosos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se deducen, contextualizándolos en el conjunto de las evidencias más accesibles. No repetir en detalle datos u otro material que aparezca en la Introducción o en el apartado de Resultados. En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los principales resultados; a continuación, explorar los posibles mecanismos o explicaciones de dichos hallazgos, comparar y contrastar los resultados con los de otros estudios relevantes, exponer las limitaciones del estudio, y explorar las implicaciones de los resultados para futuras investigaciones y para la práctica clínica. Relacionar las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando hacer afirmaciones rotundas y sacar conclusiones que no estén debidamente respaldadas por los datos. En particular, evitar afirmaciones sobre los costes y beneficios económicos a menos que el manuscrito incluya datos económicos con sus correspondientes análisis. Evitar afirmaciones o alusiones a aspectos de la investigación que no se hayan llevado a término. Cabe la posibilidad de establecer nuevas hipótesis cuando tengan base, pero calificándolas claramente como tales.
- e) **Agradecimientos.** Una o más declaraciones deben especificar (a) Las contribuciones que necesitan agradecerse pero que no justifican una autoría, tales como apoyo general por una jefatura de departamento; (b) Agradecimientos al apoyo técnico; (c) Agradecimiento al apoyo financiero y material, que debe especificar la naturaleza del apoyo; (d) Las relaciones que pueden tener un conflicto de intereses. Las personas que han contribuido intelectualmente al artículo, pero cuyas contribuciones no justifican una autoría, pueden ser mencionadas y sus funciones o contribuciones pueden ser descritas -por ejemplo, “asesor científico”, “revisión crítica de los propósitos del estudio”, “recolección de información” o “participación en el ensayo clínico”; tales personas deben haber dado sus permisos para ser mencionadas. Los autores son responsables de obtener los permisos escritos de las personas a quienes se agradece, porque los lectores pueden inferir su endosamiento de la información y conclusiones. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

## 6. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas al 2016)

### 6. 1. Citas bibliográficas:

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto.

Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

#### a) Tipo de citas

- **Cita directa:** La que se transcribe textualmente. Ejemplo: “La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de Puntuación” [3].
- **Cita corta:** Menos de cinco renglones.
- **Cita larga:** Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.
- **Cita indirecta:** Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de

la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

#### b) Tipo de cita según redacción

- **Cita integral:** Es aquella donde el nombre del autor forma parte de la oración. El nombre se integra dentro del texto. El número de la referencia se escribe después del apellido del autor y antes de citar su idea. Ejemplos:  
Como dice Londoño [5] la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín. Cita Indirecta  
Según Sanz Pinyol [1] “Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” Cita directa
- **Cita no integral:** No se menciona el nombre del autor dentro del texto. Ejemplos:  
É la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5]. Cita Indirecta  
“Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” [1]. Cita directa

### 6. 2. Referencias bibliográficas:

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. Deben ser numeradas consecutivamente en el orden en que son mencionadas en el texto. Identificar las referencias en el texto, cuadros y leyendas con números arábigos entre corchetes. Las referencias citadas sólo en los cuadros o en las leyendas de las figuras deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto del cuadro o figura particular.
- Usar el estilo basado en los formatos utilizados por el US National Library of Medicine (NLM) en el Index Medicus. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo que utiliza el Index Medicus. Consultar la lista de revistas indizadas en el Index Medicus, publicado anualmente como una separata por la NLM y como una relación en el volumen del mes de enero del Index Medicus.
- Evitar el uso de los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos aceptados pero no publicados deben ser designadas como “en prensa” o “en avance”; los autores deben obtener permiso por escrito para citar tales artículos así como la verificación de que ellos han sido aceptados para publicación. La información de los manuscritos remitidos pero no aceptados debe ser citada en el texto como “observaciones no publicadas” con el consentimiento escrito de los autores.
- No citar una “comunicación personal” a menos que proporcione información esencial no disponible de una fuente pública, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha de la comunicación deben ser citados entre paréntesis en el texto. Para los artículos científicos, los autores deben obtener permiso por escrito y confirmación de exactitud de la fuente de la comunicación personal.
- Las referencias deben ser verificadas por el autor o autores en los documentos originales.
- El estilo de Requisitos Uniformes (de Vancouver) se basa principalmente en el estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para su base de datos.

#### a) Artículos de revistas

- Mencionar los seis primeros autores seguidos por et al (Nota: la NLM ahora menciona hasta 25 autores; si hay más de 25 autores, la NLM menciona los 24 primeros, luego el último autor seguido de et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996;jun 1; 124 (11): 980-3.  
Como una opción, si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen pueden ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreaticobiliary disease. Ann Intern Med 1996; 124: 980-3.

- Más de seis autores:  
Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
  - La organización como autor:  
The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. *Med J Aust* 1996; 164:2824.
  - Sin autor mencionado:  
Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
  - Artículo no escrito en inglés:  
Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral inftapatellar seneruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996; 116: 412.
  - Volumen con suplemento:  
Shen M Zhang QF. Risk assesment of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1: 275-82.
  - Número con suplemento:  
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 (1 Suppl 2. 89-97).
  - Volumen con parte:  
Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 [Pt 3]: 303-6.
  - Número con parte  
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994;107 (986 PH): 377-8.
  - Número sin volumen  
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; (320): 110-4.
  - Sin número, ni volumen:  
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
  - Compaginación en números romanos:  
Fisher GA, Sikié BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9(2): xi xii.
  - Tipo de artículo indizado tal como es requerido:  
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337.
- Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
- Artículo conteniendo una retractación:  
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6: 426-31]. *Nat Genet* 1995;11: 104.
  - Artículo retractado:  
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expresion during mouse development [retractado en *Invest Ophthalmo Vis Sci* 1994; 35: 31271. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1083-8.
  - Artículo con errata publicada:  
Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients following inguinal hernia repair [publicado con errata en *West J Med* 1995; 162. 2781]. *West J Med* 1995; 162 28-31.
- b) Libros y otras monografías
- Autor [o autores] personal:  
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.
  - El editor(es), compilador(es) como autor:  
Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York; Churchill Livingstone; 1996.
  - Una organización como autor y editor:  
Institute of Medicine [US]. Looking at the future of the Medical program. Washington [DC]: The Institute; 1992).
- Un capítulo en un libro:  
Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
  - Libro de congreso:  
Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier;1996.
  - Ponencia de un congreso:  
Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degouler P, Piemme TE, Rienhoff O, editors MEDINFO 92 m Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10, Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Informe científico o técnico
- Emitido por la agencia financiante o auspiciadora:  
Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Oficce of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report N° HHSIGOEI69200860.
  - Emitido por la agencia ejecutante:  
Field MJ, Tranquada RE, FeasleyJC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract N°AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Disertación
- Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ; 1995.
- e) Patente
- Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignance. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5.529,067, 1995 Jun Material publicado.
- f) Artículo de periódico
- Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 5000 admissions annually. *The Washington Post* 1996; jun 21; Sect. A:3 [col5].
- g) Material audiovisual
- HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassettel. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.
- c) Material legal
- h) Ley Pública
- Preventive Health Amendments of 1993, PubL. N° 103-183,107Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].
- i) Dispositivo no decretado
- Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess [1995].
- j) Código de regulaciones federales
- Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].
- k) Material inédito
- En prensa o "en avance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. *N Eng J Med*. En prensa 1997
- l) Material electrónico
- Artículo de una revista en formato electrónico:  
Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1(1): [24 screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
  - Monografía en formato electrónico:  
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 20. San Diego: CMEA; 1995.
  - Archivo computarizado:  
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [computer

program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

## 7. Tablas

Todas las tablas deben agruparse a continuación de las leyendas de las figuras, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números romanos, contener un título y aclaraciones al pie de la tabla, si fuese necesario. Al pie de cada tabla debe figurar la aclaración de las abreviaturas empleadas, así como toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. Las tablas deben ser comprensibles por sí mismas. Para la elaboración de las tablas, se recomienda utilizar el procesador de texto Word y seleccionar el Estilo de Tabla "Tabla básica 1".

## 8. Figuras

Todas las figuras deben agruparse a continuación de las tablas, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números arábigos. Las fotografías y las figuras podrán tener colores, aunque en el caso de las figuras el fondo debe ser blanco. El título de las figuras no debe incluirse junto a las mismas sino en la sección "Leyendas de Figuras". En dicha leyenda debe incluirse el título de la figura, la aclaración de las abreviaturas empleadas y toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. En caso de figuras, fotografías o tablas tomadas de otra publicación, se debe citar la fuente y además enviar el permiso escrito otorgado por el propietario intelectual de dicho material para que el mismo sea publicado en ByPC.

## 9. Revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos

Las revisiones, cartas al editor, informes guías y consensos serán usualmente solicitados por el Comité Editorial de la Revista a autores considerados expertos en el campo, la disciplina o la especialidad en cuestión. Sin embargo, serán consideradas para su publicación las que fueran enviadas espontáneamente. Deberán seguir los lineamientos expuestos para la publicación de artículos originales, con la diferencia de que su texto no necesitará contar con resultados y discusión. En el caso particular de las revisiones, deben contener un mínimo de 20 referencias bibliográficas completas y actualizadas a los fines del tema tratado.

## 10. Ortografía y formas de expresión

- Se debe evitar la utilización de palabras en otros idiomas y, cuando ello sea indispensable, deberán ser colocadas en itálica [Ej.: *in vitro*].
- El estadístico "p" debe ser escrito en minúscula.
- En la expresión de los resultados, se debe dejar espacio entre la cifras y los símbolos o las unidades [Ej.:  $p < 0,05$ ;  $32 \pm 2 \text{ g/l}$ ].
- Unidades: se deben emplear las unidades utilizadas más frecuentemente en nuestro medio para cada analito [Ej.: glucosa, urea, ácido úrico, lípidos, lipoproteínas, apoproteínas en mg/dl].
- Las abreviaturas deben ser aclaradas la primera vez que aparecen en el texto ubicándolas entre paréntesis, a pesar de que se trate de abreviaturas ampliamente conocidas [Ej. hemoglobina (Hb)]. A su vez, siempre deben ir seguidas de un punto.
- En la expresión de los resultados, tanto la media como la mediana deben contener la misma cantidad de decimales que sus respectivos desvíos estándar, errores, percentilos o rangos [Ej.  $9,25 \pm 0,78$ ].
- En la expresión de los resultados, la separación entre el entero y los decimales se debe hacer mediante comas y no con puntos lo cual es propio del idioma inglés (3,25), excepto para el resumen en inglés (*Abstract*), en el cual se deben emplear puntos (3.25).
- En el texto, cuando un número aparece al principio de la oración, deberá ser escrito en letras [Ej. Veinte pacientes..].



Por favor, tenga a bien responder las siguientes preguntas por SI o por NO y realice todos los comentarios que justifiquen su respuesta. Si lo considera necesario, puede agregar otros ítems no incluidos en el formulario.

Sus comentarios serán remitidos al autor sin identificar la fuente y sus sugerencias serán de gran ayuda para éste y para los editores de la Revista.

**Formulario Guía para la evaluación de manuscritos**

SECCIÓN	SI/NO	COMENTARIOS		
<b>Título</b>				
¿Contiene el objeto de estudio y menciona las principales variables estudiadas?				
¿Emplea abreviaturas, acrónimos, símbolos o fórmulas poco conocidas?				
¿Es una representación breve y precisa del contenido del artículo?				
<b>Introducción</b>				
¿Están bien resumidos los antecedentes del tema de estudio y son pertinentes al mismo?				
¿Está claramente definido el objetivo principal?				
<b>Materiales y métodos</b>				
¿La población y / o muestra estudiada está claramente definida?				
¿Se menciona con claridad el diseño metodológico?				
¿Los métodos aplicados están desarrollados con claridad y suficientes detalles?				
¿El tratamiento estadístico es el adecuado?				
<b>Resultados</b>				
¿Los datos están bien presentados?				
¿Las tablas, las figuras y los gráficos son comprensibles?				
¿Existen tablas, gráficos o figuras que deban cambiarse, eliminarse o ser agregados?				
¿Existe duplicación de la información entre el texto, las tablas, las figuras y/o gráficos?				
<b>Discusión</b>				
¿Los resultados son adecuadamente discutidos?				
¿Se confrontan con referencias actualizadas de otros autores pertinentes?				
¿Existen errores de cálculo, interpretación u omisión?				
<b>Conclusiones</b>				
¿Las conclusiones se soportan en los datos obtenidos?				
¿Son correctas y acordes al objetivo planteado para este estudio?				
<b>Referencias bibliográficas</b>				
¿Se mencionan completamente todas las referencias bibliográficas citadas en el trabajo?				
¿Se consignan con el formato establecido para la revista?				
<b>Modificaciones sugeridas y recomendaciones para el/los autor/es</b>				
<b>Comentarios exclusivos para el editor</b>				
Dictamen	Aceptar <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios menores <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios mayores <input type="checkbox"/>	Rechazar <input type="checkbox"/>

# PUBLICATIONS REGULATION

## BIOCHEMICAL AND CLINICAL PATHOLOGY JOURNAL

### BIOCHEMICAL ASSOCIATION ARGENTINA

Biochemistry and Clinical Pathology (ByPC) is the Journal of the Argentine Biochemical Association, it aims to divulge unpublished and original articles related to applications of clinical biochemistry and its specialties like healthcare and human clinical research, as well as in biochemistry animal and vegetable. ByPC is intended for all health professionals interested in these areas. ByPC is published quarterly in both formats, printed [ISSN 1515-6761] and electronic [ISSN 2684-0359], cost free for the authors and has no commercial purposes.

#### **ByPC Magazine Commission Members**

##### **Director:**

Dr. Fernando D. Brites

Pharmacy and Biochemistry Faculty, Buenos Aires University. National Council for Scientific and Technical Research. Buenos Aires City, Argentina.

##### **Scientific Secretary:**

Dr. Fabrina Capece

Pedro Elizalde Children's Hospital. Buenos Aires City. Health Ministry, Buenos Aires province, Argentina.

##### **Editorial Committee:**

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Carlos G. Durand General Acute Hospital. University Institute, Buenos Aires Italian Hospital. Buenos Aires City, Argentina.

Dra. Isabel Desimone

Evita Hospital, Lanús, Buenos Aires province. Kennedy University, Buenos Aires City, Argentina.

Dr. Jaime Kovensky

Dr. Arturo Umberto Illia Hospital, Buenos Aires City, Argentina. La Matanza National University, Buenos Aires province, Argentina.

Dr. Julián Verona

Dr. Felipe Fossati Hospital. Buenos Aires province, Argentina.

##### **Language checker**

Lic. Débora Schmer Miranda (Spanish)

Lic. María Victoria González Eusevi (English)

##### **Administrative Secretaries**

Mr. Gastón Goldberg

Mr. Jorge Signorelli

The works sent to the ByPC magazine must not have been published or be published simultaneously in other magazines and bodies of national or foreign scientific dissemination, in printed and electronic form. It is worth mentioning that textual copying of text from other articles is absolutely prohibited. For the detection of plagiarism the ByPC Magazine uses the plag.es software. For the preparation of manuscripts follow the requirements of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) available at <http://www.icmje.org>. Guides for publications can be consulted at <http://www.equatornetwork.org>, available in Spanish at <http://www.espanol.equator-network.org>. Once the publication of the work has been approved, ByPC retains the rights to its total or partial reproduction. Those who wish to reproduce material published in the magazine must request permission from ByPC. Likewise, to include material from other sources with copyright in articles to be published in the journal, the corresponding permission must be obtained, and a copy of it must be attached to the article proposed for publication. For more information regarding the rights of the authors, it is recommended to consult the document available at <http://www.accesoabierto.net/es/node/62>.

#### **1. Description of the revision and editing process**

The review modality is by double-blind academic peers. Specifically, the Journal Commission carries out a first evaluation of the work received and sends it to two reviewers outside the Argentine Biochemical Association, who must be recognized specialists in the area of responsibility for the work. They must not belong to the same institution as the authors of the article or have any known relationship with them. Articles are sent to the reviewers without the name of the authors, workplace, address of correspondence, nor the thanks, safeguarding anonymity. The reviewers receive the complete work accompanied by a guide form for the review with topics that the Magazine Commission considers essential to prepare the final opinion. The evaluation made by the reviewers must be sent to the Magazine Commission within the following 30 days. The opinion of the reviewers must be explicitly based, it is reserved, as well as their identity. In case of discrepancy in the opinion, the Review Commission will go to a third reviewer who meets the same requirements as the previous ones. The opinion is decided by the Magazine Commission and is communicated to the authors. The results of the opinion can be: a) Acceptance without the need for additional modifications; b) Suggestion of major changes; c) Suggestion of minor changes; and d) Rejection. The criticisms made of the work, as well as an eventual rejection, must be duly justified. The evaluation results are final. The authors must respond to the suggestions made within a period not exceeding 30 days from the receipt thereof, except that due to the nature of the suggestions, a longer period of time is required. In this case, they must specifically request it from the Magazine Commission. Once the work has been accepted and communication has been made to the authors, the style and spelling correction is carried out, in both Spanish and English. Next, the galley test is prepared, which is sent to the authors, along with the instructions to make the correction. The authors have 5 working days to send the corrected galley proof to the Magazine. After the article is published, I feel the possible self-archiving immediately afterwards (post-print version corrected). The time elapsed between accepting the job and publishing it ranges from 3 to 5 months.

#### **2. Requirements for the submission of manuscripts**

- Double space in all parts of the manuscript (double line spacing).
- Start each section or component on a new page.
- Review the sequence: title; authors; work places; details of the author of the correspondence; abstract and keywords in castilian; title, abstract and keywords in American English; introduction; materials and methods; results; discussion; acknowledgments, bibliographic references, figure legends; boards; and figures (each on separate pages).
- Illustrations must be no larger than 203 x 254 mm.
- Include permissions to reproduce previously published material or use illustrations that can identify people.
- Include copyright transfers and other requests.

#### **3. Letter**

Letter addressed to the Director of the Magazine in which the publication of the article is requested. It must contain the title of the work, the category to which it belongs (see item 4), name and surname of all the authors, address, telephone numbers and e-mail address of the contact author, an alternative e-mail address, a phrase with the value of an affidavit stating that the article meets all the publication requirements in ByPC, and that the latest version of the manuscript has been read and approved by all the authors. The works should be done through the OJS system on the official website of the ByPC Magazine: <http://revista.aba-online.org.ar/>. No work will be received outside of this system. There are no item shipping or processing charges [APC]. Any questions can be cleared by entering the instructions or request assistance to [revista@aba-online.org.ar](mailto:revista@aba-online.org.ar) or [revistabypc.aba@gmail.com](mailto:revistabypc.aba@gmail.com). dne

#### 4. Categories to which the works must be submitted

- a) Original articles
- b) Clinical cases
- c) Reviews
- d) Letters to the Editor
- e) Reports
- f) Guides or Consensus

#### 5. Preparation of the manuscripts

##### 5.1. Overview:

The file should be named only with the last name of the first author and the legend "y col." if applicable (Ex.: Pérez et al.). The text should be divided into sections, with the titles of Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Long articles may require subtitles within some sections (especially in the Results and Discussion sections) to clarify their content. Must be written in Word word processor, in A4 page size, with margins of at least 25 mm, using Arial font size 12. Use double space (double line spacing), including title page, abstract, body text of the manuscript, acknowledgments, bibliographic references, individual tables and legends. Number the pages consecutively starting with the title page. Put the page number in the lower right corner of each page.

##### 5.2. The first page must contain:

- a) The title that must be concise but informative.
- b) The surname and then, separated by a comma, the names of authors' full, which must be followed by a semicolon, and the data of the next author. Following the name of each author, the number that refers to the workplace to which the author belongs, as a superscript. The author to whom the correspondence should be addressed should be highlighted with an asterisk also as a superscript (Ex.: Ramírez, Juan Carlos1\*; Benítez, Laura2; Romero, Mario3).
- c) Each workplace with the number assigned to the corresponding author. Abbreviations should not be used. The name of the service or laboratory must first appear, then the department or section, and finally the institution, all separated by commas and followed by period. Next, the name of the city, province and country must be included, also separated by commas and with an end point (Ex: Lipid and Atherosclerosis Laboratory, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Buenos Aires, Autonomous City of Buenos Aires, Argentina).
- d) Full name of the author responsible for receiving the correspondence, their place of work, the postal address, and the e-mail address.

##### 5.3. The second page must contain:

- a) The summary in Spanish of no more than 250 words. It must be structured as follows: introduction, objectives, materials and methods, results and conclusions. Such subtitles must be explicitly included. The abstract should establish the purposes of the study or investigation, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals; observation and analytical methods), the main findings and the most relevant conclusions. Emphasis should be placed on new and important aspects of the study or observations. It is recommended to include the values corresponding to the most relevant findings accompanied by the form of expression thereof (Ex.: Mean  $\pm$  SD) and statistical treatment, if applicable. Abbreviations should not be used in the abstract.
- b) Keywords. Authors should place, and identify as such, three to ten keywords or short phrases that will serve to cross-index the article and must be published with the article.

##### 5.4. The third page must contain:

- a) Title in American English. Must meet the same requirements as the title in Spanish.
- b) Summary in American English, titled with the word Abstract. It must meet the same requirements as the abstract in Spanish and include the following subtitles: introduction, objectives, materials and methods, results and conclusions.
- c) Key words in American English (Key words). They must meet the same requirements as the keywords in Spanish.

##### 5.5. Subsequent pages, beginning each section on a separate page, must contain:

- a) Introduction. In the introduction, you should express the context or background of the study (for example, the nature of the problem and its importance) and state the specific or objective purpose of the research or the hypothesis that is tested in the study or observation. Often the research focuses more clearly when asked as a question. Both the primary and secondary objectives should be clear. Only bibliographic references that are strictly relevant should be included and no data or conclusions from the work presented should be added.
- b) Materials and Methods. You should describe in detail the experimental subjects, equipment, reagents, and procedures used, including trademarks where applicable and references when using established methods. Indicate the ethical considerations that apply if human beings have participated in the study (approval by Ethics Committees and obtaining Informed Consent). It is recommended to divide the Materials and Methods section by using subtitles if it is too long. Include a "Data analysis" section in which the forms of expression of the results and the statistical methods used are described, if applicable. These should be described in sufficient detail to allow an expert reader with access to the original data to verify the results presented. Whenever possible, quantify the findings and present them with appropriate measurement indicators of error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid relying solely on the testing of statistical hypotheses, such as the use of P values, which do not give information on the magnitude of the effect. Whenever possible, references to study design and statistical methods should correspond to classic manuals or articles (with page numbers included). Also define statistical terms, abbreviations and most symbols. Specify the software used and the sample size calculation (if applicable).
- c) Results. Present the results following a logical sequence in the text, tables and illustrations, and highlighting the most important findings first. Do not repeat the data in the tables or illustrations in the text; highlight or summarize only the most important observations. Extra or supplementary materials and technical details can be placed in an annex where they can be consulted for non-interrupt the text sequence. Limit the number of tables and figures to those strictly necessary to illustrate the topic of the article and to assess its degree of support. Use graphics as an alternative to tables with many inputs; do not duplicate data in graphs and tables. Avoid non-technical uses of statistical terms, such as "chance" (which implies a randomization device), "normal," "significant," "correlations" and "sample". When scientifically appropriate, include analysis based on variables such as age and sex.
- d) Discussion. To highlight the most novel and important aspects of the study and the conclusions that are deduced from them, contextualizing them in the set of the most accessible evidences. Do not repeat in detail data or other material that appears in the Introduction or in the Results section. In the case of experimental studies, it is useful to start the discussion by briefly summarizing the main results; next, explore the possible mechanisms or explanations of these findings, compare and contrast the results

with those of other relevant studies, expose the limitations of the study, and explore the implications of the results for future research and clinical practice. Relate the conclusions to the objectives of the study, avoiding making clear statements and drawing conclusions that are not properly supported by the data. In particular, avoid claims about economic costs and benefits unless the manuscript includes economic data with its corresponding analyses. Avoid claims or allusions to aspects of the investigation that have not been completed. It is possible to establish new hypotheses when they are based, but clearly qualifying them as such.

e) Acknowledgments. One or more statements must specify (a) Contributions that need to be thanked but do not warrant authorship, such as general support by a department head; (b) Thanks to technical support; (c) Acknowledgment of the financial and material support, which must specify the nature of the support; (d) Relationships that may have a conflict of interest. People who have contributed intellectually to the article, but whose contributions do not justify authorship, can be mentioned and their functions or contributions can be described -for example, "scientific advisor", "critical review of the study's purposes", "information gathering" or "participation in the clinical trial"; such persons must have given their permissions to be mentioned. Authors are responsible for obtaining the written permissions of those whom they are thanked, because readers can infer their endorsement of the information and conclusions. Technical assistance should be appreciated in a paragraph apart from the acknowledgments of other contributions.

## 6. Aspects that must be taken into account in the writing of the manuscript (Vancouver Rules updated to 2016)

### 6. 1. Bibliographic citations:

It is the textual or summarized presentation of ideas expressed by other authors that support the researcher, they are opposed to what he says or provide more information on a given topic. Quotations are a type of text embedded in other text. Vancouver-style dating usually uses a number sequence system. They are numbered consecutively in the order of appearance in the text. They are identified by Arabic numbers in square brackets, example [1].

#### a) Type of appointments

- Direct quote: The one that is transcribed verbatim. Example: "The short textual quotation, of less than five lines, is inserted within the text in quotation marks, and the corresponding number is placed at the end, after the quotation marks and before the Punctuation mark" [3].
- Short appointment: Less than five lines.
- Long appointment: More than five lines. It is written outside the text, leaving double space and indentation, between quotation marks and italics.
- Indirect citation: Mention of the ideas of an author in the words of the writer. It is written inside the text without quotes, the reference number is written immediately after quoting your idea. Example: Infant mortality leads to worsening quality of life in Medellín [5].

#### b) Type of appointment according to wording

- Full quote: It is the one where the author's name is part of the sentence. The name is integrated into the text. The reference number is written after the author's last name and before citing her idea.

Examples:

As Londoño [5] says infant mortality leads to worsening the quality of life in Medellín. Indirect Quote

According to Sanz Pinyol [1] "From the point of view of the char-

acterization of discourses, different genres tend to occur in the classroom" Direct quote

- Non-integral quote: The author's name is not mentioned in the text. Examples:

... infant mortality leads to worsening the quality of life in Medellín [5]. Indirect Quote

"From the point of view of the characterization of discourses, different genres tend to occur in the classroom" [1]. Direct appointment

### 6. 2. Bibliographic references:

- Sufficiently detailed data set to identify a document. They must be numbered consecutively in the order in which they are mentioned in the text. Identify the references in the text, tables and legends with Arabic numbers between square brackets. References cited only in the tables or in the legends of the figures must be numbered according to the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure.
- Use the style based on the formats used by the US National Library of Medicine (NLM) in the Index Medicus. Journal titles should be abbreviated according to the style used by the Index Medicus. Consult the list of journals indexed in the Index Medicus, published annually as a reprint by the NLM and as a relation in the January volume of the Index Medicus.
  - Avoid using abstracts as references. References to accepted but unpublished articles should be designated as "in press" or "in advance"; Authors must obtain written permission to cite such articles as well as verification that they have been accepted for publication. The information of the manuscripts submitted but not accepted must be cited in the text as "unpublished observations" with the written consent of the authors.
  - Do not quote a "personal communication" unless you provide essential information not available from a public source, in which case the name of the person and the date of the communication must be cited in parentheses in the text. For scientific articles, authors must obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of the personal communication.
- References must be verified by the author or authors in the original documents.
- The Uniform Requirements (Vancouver) style is based primarily on the ANSI standard style adapted by the NLM for its database.

#### a) Journal articles

- Mention the first six authors / es followed by et al (Note: the NLM now mentions up to 25 authors; if there are more than 25 authors, the NLM mentions the first 24, then the last author / a followed by et al): Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1; 124 [11]: 980-3. As an option, if a journal carries continuous paging through a volume (as many medical journals do), the month and volume number may be omitted: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996; 124: 980-3.
- More than six authors: Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
- The organization as author: The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guide-lines. *Med J Aust* 1996; 164: 2824.
- Without mentioned author: Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
- Article not written in English:

- Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infatpatellar sen-  
eruptur hos tidligere frisk kv-vinne. Tdsskr Nor Laegeforen 1996;  
116: 412.
- Volume with supplement:  
Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and  
occupational lung cancer Environ Health Perspect 1994; 102 Sup-  
pl 1: 275-82.
  - Number with supplement:  
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reac-  
tions to breast cancer. Semin Oncol 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].
  - Volume with part:  
Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in  
non-insulin dependent diabetes mellitus. Ann Clin Biochem 1995;  
32 [Pt 3]: 303-6.
  - Number with part  
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases offlap lacera-  
tions of the leg in aging patients. N Z Med J 1994;107 [986 PH]:  
377-8.
  - Number without volume  
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrod-  
esis in rheumatoid arthritis. Clin Orthop 1995; [320]: 110-4.
  - No number, no volume:  
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient  
and the effects of blood transfusion on antitumor responses. Curr  
Opin Gen Surg 1993; 325-33.
  - Collation in Roman numerals:  
Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Intro-  
duction. Hematol Oncol Clin North Am 1995 Apr 9 [2]: xi xii.
  - Type of article indexed as required:  
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease  
[letter]. Lancet 1996; 347 1337.  
Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus  
nephropathy (HVN) [abstract] Kidney Int 1992; 42: 1285.
  - Article containing a retraction:  
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect as-  
sociated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey CE, Schwarz-  
man AL, Rise ML. In: Nat Genet 1994; 6: 426-31]. Nat Genet 1995,  
11: 104.
  - Retracted article:  
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression  
during mouse development [retracted in Invest Ophthlmo Vis Sci  
1994; 35: 31271. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994; 35: 1083-8.
  - Article with errata published:  
Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients follow-  
ing inguinal hernia repair [published with typo in West J Med 1995;  
162. 2781]. West J Med 1995; 162 28-31.
- b) Books and other monographs
- Personal author [or authors]:  
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses.  
2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; nineteen ninety six.
  - The editor [s], compiler [s] as author:  
Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly peo-  
ple. New York; Churchill Livingstone; nineteen ninety six.
  - An organization as author and editor:  
Institute of Medicine [US]. Looking at the future of the Medical pro-  
gram. Washington [DC]: The Institute; 1992].
  - A chapter in a book:  
Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH,  
Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and  
management. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
  - Congress book:  
Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neu-  
rophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of  
EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan.  
Amsterdam: Elsevier; 1996.
  - Presentation of a congress:  
Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, pri-  
vacy and security in medical informatics. In: Mon KC, Degouler P,  
Piemme TE, Rienhoff O, editors MEDINFO 92 m Proceedings of the  
7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10, Ge-  
neva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Scientific or technical report
- Issued by the funding or sponsoring agency:  
Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed  
during skilled nursing facility stays. Final report Dallas [TX]: Dept.  
of Health and Human Services [US], Oficce of Evaluation and In-  
spections; 1994 Oct. Report N ° HHSIGOEI69200860.
  - Issued by the executing agency:  
Field MJ, Tranquada RE, FeasleyJC, editors. Health services re-  
search: work force and educational issues. Washington: National  
Academy Press; 1995. Contract No. AHCPR282942008. Sponsored  
by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Dissertation
- Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access  
and utilization [dissertation]. St Louis [MO]: Washington Univ;  
nineteen ninety five.
- e) Patent
- Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, as-  
signance. Methods for procedures related to the electrophysiol-ogy  
of the heart. US patent 5,529,067, 1995 Jun Published material.
- f) Newspaper article
- Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates  
5000 admissions annually. The Washington Post 1996; Jun 21;  
Sect. A: 3 [col5].
- g) Audiovisual material
- HIV + / AIDS: the facts and the future [videocassetel. St Louis  
[MO]: Mosby-Year Book 1995.
- c) Legal material
- h) Public Law
- Preventive Health Amendments of 1993, Publ. No. 103-183,107  
Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].
- i) Device not decreed
- Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong.  
1st Sess [1995].
- j) Code of Federal Regulations
- Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].
- k) Unpublished material
- In press or "in advance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Eng J  
Med. In press 1997
- l) Electronic material
- Article of a magazine in electronic format:  
Morse SS. Factors in the emergence of infections diseases. Emerg In-  
fect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996Jun 5], 1 [1]: [24  
screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
  - Monograph in electronic format:  
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM].  
Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd  
ed. Version 20. San Diego: CMEA; nineteen ninety five.
  - Computerized file:  
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [com-  
puter program]. Version 2.2 Orlando [FL]: Computerized Educati-  
onal Systems; 1993.

## 7. Tables

All tables should be grouped after the legends of the figures, each  
on a separate page. They should be sequentially numbered with Ro-  
man numerals, contain a title and clarifications at the bottom of the

table, if necessary. At the bottom of each table should be the clarification of the abbreviations used, as well as all the information related to the form of expression of the results and the statistical treatment that the authors consider necessary. Tables must be understandable by themselves. For the elaboration of the tables, it is recommended to use the Word word processor and select the Table Style "Basic Table 1".

## 8. Figures

All figures should be grouped after the tables, each on a separate page. They must be numbered sequentially with Arabic numerals. Photographs and figures may have colors, although in the case of figures the background must be white. The title of the figures should not be included with them but in the section "Legends of Figures". This legend should include the title of the figure, the clarification of the abbreviations used and all the information related to the form of expression of the results and the statistical treatment that the authors consider necessary. In the case of figures, photographs or tables taken from another publication, the source must be cited and the written permission granted by the intellectual owner of said material must also be sent so that it can be published in ByPC.

## 9. Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus

Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus will usually be requested by the Editorial Committee of the Journal from authors considered experts in the field, discipline or specialty in question. However, they will be considered for your. Reviews, letters to the editor, guide reports and consensus will usually be requested by the Editorial Committee of the Journal from authors considered experts in the field, discipline or specialty in question. However, those that were sent spontaneously will be considered for publication. They must follow the guidelines set forth for the publication of original articles, with the difference that their text will not need to have results and discussion. In the particular case of the reviews, they must contain a minimum of 20 complete and updated bibliographic references for the purposes of the topic covered.

## 10. Spelling and forms of expression

- The use of words in other languages should be avoided and, when this is essential, they should be placed in italics (eg *in vitro*).
- The "p" statistic must be written in lowercase.
- In the expression of the results, space must be left between the figures and the symbols or units (eg:  $p < 0.05$ ;  $32 \pm 2 \text{ g/l}$ ).
- Units: the units most frequently used in our environment must be used for each analyte (eg glucose, urea, uric acid, lipids, lipoproteins, apoproteins in mg / dl).
- Abbreviations must be clarified the first time they appear in the text, placing them in parentheses, despite the fact that they are widely known abbreviations (eg hemoglobin (Hb)). In turn, they should always be followed by a point.
- In the expression of the results, both the mean and the median must contain the same number of decimals as their respective standard deviations, errors, percentiles, or ranges (eg  $9.25 \pm 0.78$ ).
- In the expression of the results, the separation between the integer and the decimals must be done with commas and not with dots, which is typical of the English language (3.25), except for the English summary (Abstract) which points should be used (3.25).
- In the text, when a number appears at the beginning of the sentence, it must be written in letters (Ex. Twenty patients ..).



Please, answer the following questions YES or NO and make all the comments that justify your answer.

If you consider it necessary, you can add other items not included in the form. Your comments will be forwarded to the author without identifying the source and your suggestions will be of great help to him / her and to the editors of the Journal.

### Guidance form for manuscript evaluation

SECTION	YES/NO	COMMENTS
<b>Title</b>		
Does it contain the object of study and mention the main variables studied?		
Do you use little-known abbreviations, acronyms, symbols, or formulas?		
Is it a brief and accurate representation of the content of the article?		
<b>Introduction</b>		
Are the background of the study topic well summarized and relevant to it?		
Is the main objective clearly defined?		
<b>Materials and methods</b>		
Is the population and / or sample studied clearly defined?		
Is the methodological design clearly mentioned?		
Are the applied methods developed clearly and in sufficient detail?		
Is the statistical treatment appropriate?		
<b>Results</b>		
Is the data well presented?		
Are the tables, figures and charts understandable?		
Are there tables, charts, or figures that need to be changed, removed, or added?		
Is there duplication of information between text, tables, figures and / or graphics?		
<b>Discussion</b>		
Are the results adequately discussed?		
Are they confronted with updated references from other relevant authors?		
Are there errors in calculation, interpretation or omission?		
<b>Conclusions</b>		
Are the conclusions supported by the data obtained?		
Are they correct and consistent with the objective set for this study?		
<b>Bibliographic references</b>		
Are all bibliographic references cited in the work fully mentioned?		
Are they reported in the format established for the magazine?		

# Evolucionar

Aprender, aún de las situaciones adversas. Aprender y capitalizar como el cimiento fundamental para evolucionar. Evolucionar es justamente lo que nos define como especie y como sociedad.

Sin dudas, estamos atravesando y nos atraviesa una crisis histórica, única y global: SARS-CoV-2, que nos dejará muchas enseñanzas. Vivimos una realidad en la que estamos intentando entender los cambios de conductas, actitudes y comportamientos que nos impactan en lo personal y en lo social: la resiliencia nos empuja a repensar y reaprender nuestros roles de padres, hijos, vecinos, ciudadanos, líderes y profesionales.

Desde nuestro trabajo, tenemos certeza de que esta pandemia generará mucho conocimiento científico sobre virus y sistema inmune. También sabemos que hay muchas incógnitas todavía: pacientes con enfermedad severa y otros totalmente asintomáticos; pacientes "supercontagadores" y otros que no contagian a sus convivientes; pacientes que desarrollan una fuerte respuesta de anticuerpos y otros con respuesta débil o incluso no demostrable por los métodos actuales; pacientes que mantienen la PCR positiva hasta 100 días y así, se podría mencionar una larga lista de situaciones.

Desde hace más de un año, como bioquímicos, estamos aprendiendo: leemos, estudiamos, nos formamos, invertimos, nos movilizamos, nos esforzamos para tener herramientas que nos ayuden a enfrentar las necesidades diagnósticas de este nuevo virus. Fuimos adquiriendo experiencia, sin dejar de lado lo que ya veníamos haciendo en el laboratorio. Seguramente, todos tuvimos falencias. No fueron ni son tiempos fáciles.

Son momentos de mucho cambio en poco tiempo, con dedicación de horas y horas de trabajo, que podemos sostener motivados, sin dudas, por el amor y la pasión que tenemos por lo que hacemos.

Después de más de un año al frente de la batalla, estamos cansados. Es mucho el tiempo de trabajo sostenido para dar respuestas a una sociedad que tiene miedo y muchos interrogantes. Aun así, tenemos una certeza, que es nuestro mayor estandarte: desde el día 1 hasta hoy, ocupamos un rol central en esta problemática y nuestra profesión se puso en juego como nunca antes.

Lamentablemente, fuimos y seguiremos siendo avasallados en nuestras incumbencias profesionales. En este

tiempo todos hemos vivido distintas circunstancias, "golpes bajos" por parte de inescrupulosos que nada respetan, y eso nos obliga a continuar con convicción, defendiendo nuestra querida profesión bioquímica.

Somos los profesionales idóneos para la toma y procesamiento de las muestras y la emisión e interpretación de resultados. Como dice mi amigo y colega Rafael: *"Esto no es soplar y hacer botellas"*. Se requiere conocer la situación del paciente y su necesidad, conocer los tests disponibles y sus características (sensibilidad, especificidad, VPP, VPN), realizar una adecuada toma de muestra, contar con el conocimiento para procesarla por el método seleccionado, observar, interpretar y emitir el resultado, y asesorar sobre el mismo. Además, se debe contar con la infraestructura de laboratorio necesaria para que todo el procedimiento se desarrolle en un entorno seguro, incluidos el descarte de residuos patológicos y la denuncia pertinente en el sistema de vigilancia. En este sentido, es realmente esencial reconocer y valorar la tarea de cada bioquímico en comunas, pueblos y ciudades, así como dar reconocimiento especial para todas las instituciones que nos representan y que han demostrado un elevado grado de madurez para accionar de manera rápida y en bloque.

Este reconocimiento nos hace fuertes y nos ayuda a mirar hacia adelante., pero hay algo que, más allá de lo hecho, me desvela: no tenemos "peso específico" para lograr ciertas conquistas. ¿Qué nos pasa como colectivo bioquímico? ¿Qué hace que estemos divididos?

¿Qué hace que no logremos la valoración adecuada? ¿Por qué no somos lo suficientemente visibles? ¿Dónde nos estamos equivocando?

La pandemia nos está dando una gran oportunidad para revisar y repensar nuestro accionar como verdadera comunidad de profesionales. En mi experiencia personal trabajando en la recuperación de adictos, uno de los primeros aprendizajes que descubrí es la importancia de saber vivir en comunidad, aceptando las virtudes y defectos del otro para complementarse, y hacerlo con diálogo y comprensión.

Para terminar, voy a tomar una frase de quien es un gran ejemplo de humildad y simpleza: *"Yo hago lo que usted no puede y usted hace lo que yo no puedo. Juntos podemos hacer grandes cosas."* (Madre Teresa de Calcuta).

El laboratorio fue y es protagonista en la pandemia. Trabajemos para unirnos, salir adelante y evolucionar juntos.

**Dr. Andres Albrecht**

Director Laboratorio Mega S.A. Rafaela (Sta. Fe), Argentina.

Vicepresidente Cámara Argentina Laboratorios de Análisis Bioquímicos (CALAB).

Vicepresidente Consejo Asesor Colegio de Bioquímicos de Santa Fe 1º Circ.

ARTÍCULO ORIGINAL

# Subclases de inmunoglobulinas G más frecuentes en pacientes con diagnóstico de gammopatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM) en relación con su cadena liviana acompañante

*Subclasses of the most frequent G immunoglobulins in patients diagnosed with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and multiple myeloma (MM) in relation to their accompanying light chain.*

Cocucci, Silvina Ema<sup>1\*</sup>; Baigorria, Laura<sup>1</sup>; Osatinsky, Raquel<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Proteínas, Diagnóstico Bioquímico y Genómico, Laboratorio MANLAB. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Cocucci, Silvina Ema; Laboratorio MANLAB, Azcuénaga 1037. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; silvina.cocucci@manlab.com.ar Argentina; maruandrea@live.com

**Resumen** Introducción: la inmunoglobulina IgG se puede clasificar en cuatro subclases sobre la base de las diferencias estructurales de las cadenas pesadas con distintas propiedades fisicoquímicas, biológicas e inmunológicas. Trastornos proliferativos de células B como mieloma múltiple (MM) y gammopatías monoclonales de significado incierto (MGUS) están asociados con su producción. Objetivos: caracterizar el tipo de subclase de IgG en pacientes con MGUS y MM y su asociación con la cadena liviana acompañante como parámetro de importancia diagnóstica y pronóstica. Materiales y métodos: se estudiaron 154 pacientes con MGUS y MM clasificados por banda/componente monoclonal de subclase de IgG y cadena liviana acompañante. Se les realizó proteinograma en suero por electroforesis capilar, tipificación del clon expresado por inmunofijación en suero y cuantificación de subclases de IgG por nefelometría. Se utilizó el método estadístico de Chi cuadrado ( $X^2$ ) y Fisher, considerándose estadísticamente significativo  $p < 0,05$ . Resultados: La subclase de IgG<sub>1</sub> fue la principal en ambos trastornos. La tendencia de IgG<sub>1,2 y 4</sub> fue mayoritaria en MGUS en comparación con el MM y se invirtió para IgG<sub>3</sub>. Las prevalencias de cadena liviana fueron similares: no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,41; 0,43; 0,74$  y  $0,85$  para MGUS y  $p = 0,72; 0,41; 0,33$  y  $0,24$  para MM). Conclusiones: la tendencia dependiente de la IgG<sub>1</sub> se debería a la estimulación crónica con Ag, que subyace al inicio de MGUS y MM. Las diferencias en la expresión del resto de las subclases se deberían al potencial patogénico de cada una de ellas. La presencia de kappa o lambda fue independiente del tipo de subclase implicada en MGUS y MM. **Palabras clave:** subclases de inmunoglobulina G, gammopatía monoclonal de significado incierto, mieloma múltiple, nefelometría, cadenas livianas kappa y lambda.

**Abstract** Introduction: Based on the structural differences of their heavy chains, IgGs can be classified into four subclasses, each with different physicochemical, biological and immunological properties. B-cell proliferative disorders such as multiple myeloma (MM) and monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) are associated with their production. Objectives: To characterize the type of IgG subclass in patients with MGUS and MM, and its association with the accompanying light chain as a parameter of diagnostic and prognostic importance. Materials and Methods: A total of 154 patients with MGUS and MM classified by the band/monoclonal component of the IgG subclass and accompanying light chain were studied. A serum proteinogram by capillary electrophoresis, typing of the clone expressed by immunofixation in serum, and quantification of IgG subclasses by nephelometry were performed. Chi square ( $X^2$ ) and Fisher's statistical methods were used. Results were considered statistically significant at  $p < 0.05$ . Results: The IgG<sub>1</sub> subclass was the main one in both disorders. The tendency of IgG<sub>1,2</sub> and IgG<sub>4</sub> was greater in MGUS than in MM, whereas the opposite was observed for IgG<sub>3</sub>. The light chain prevalences were similar, with no statistically significant differences ( $p = 0.41; 0.43; 0.74$  and  $0.85$  for MGUS and  $p = 0.72; 0.41; 0.33$  and  $0.24$  for MM). Conclusions: The tendency of IgG<sub>1</sub> is due to chronic stimulation with Ag, which underlies the onset of MGUS and MM. The differences in the expression of the remaining subclasses were due to the pathogenic potential of each of them. The presence of Kappa or Lambda was independent of the type of subclass involved in MGUS and MM. **Keywords:** Subclasses of Immunoglobulin G, Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance, Multiple Myeloma, Nephelometry, Kappa and Lambda light chains.

**Introducción**

Varios trastornos proliferativos de células B están asociados con la producción de subclases de inmunoglobulinas G. Estos trastornos incluyen al mieloma múltiple y a las gammopatías monoclonales de significado incierto (MGUS).<sup>1</sup> Entre las manifestaciones clínicas asociadas se encuentran : destrucción ósea, anemia, trastornos de hiperviscosidad, infección crónica e insuficiencia renal, que pueden atribuirse directamente al exceso de producción de células plasmáticas o bien a sus productos, las proteínas monoclonales.<sup>2</sup> Otras manifestaciones pueden estar relacionadas con la producción anormal de citoquinas elaboradas por las células plasmáticas malignas o por células accesorias como las citoquinas relacionadas con la inflamación, incluidas la interleuquina 6 (IL-6), IL-10 y el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), que se han informado como factores de riesgo en MM.<sup>3</sup>

La inmunoglobulina G (IgG) es una de las proteínas más abundantes del suero humano, que representa aproximadamente el 10 - 20 % de las proteínas plasmáticas. Éstas constituyen el 80 % de las cinco clases de inmunoglobulinas, halladas en los seres humanos, descritas como IgA, IgM, IgD, IgE e IgG. Estas glicoproteínas estrechamente relacionadas, compuestas por 82 - 96 % de proteínas y 4 - 18% de carbohidratos, difieren en la estructura de la cadena pesada y tienen distintas funciones efectoras. Además, según lo expresado por Gestur Vidarsson et col.<sup>4</sup>, las cuatro subclases de inmunoglobulina G, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub>, que están altamente conservadas, difieren en su región constante, particularmente en sus bisagras y dominios CH2 superiores. Estas regiones están involucradas en la unión a los receptores IgG-Fc (FcγR) y C1q.

Como resultado, las subclases tienen diferentes funciones efectoras, tanto en términos de desencadenar células que expresan FcγR, que resultan en fagocitosis o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, como en la activación del complemento. Más aún, según muestran los hallazgos de Kramer et col.<sup>5</sup>, los mAbs HLA humanos recombinantes de clase I y clase II de las cuatro subclases de IgG que reconocen el mismo epítipo de HLA pueden generarse a partir de heterohíbridomas de células B establecidos, por

lo tanto, las cuatro subclases varían según la base de su estructura de cadena pesada con propiedades fisicoquímicas, biológicas e inmunológicas distintivas.

De manera consecuente con lo antes descrito, nuestro objetivo de estudio se basó sobre la caracterización del tipo de subclase de inmunoglobulina G prevalente en pacientes diagnosticados con gammopatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM), a lo que se sumó la asociación con su cadena liviana acompañante como parámetro de importancia diagnóstica y pronóstica.

**Materiales y métodos**

Se realizó un estudio consecutivo, experimental y de prevalencia, en el cual se incluyeron pacientes mayores de 18 años diagnosticados con gammopatía monoclonal de significado incierto (MGUS) y mieloma múltiple (MM), cuyas muestras fueron procesadas en la División de Proteínas del laboratorio MANLAB, entre mayo y agosto de 2019.

La población estudiada se clasificó en los siguientes grupos:

1. Pacientes que presentaron banda homogénea IgG/Kappa (BH G/K)
2. Pacientes que presentaron banda homogénea IgG/Lambda (BH G/L)
3. Pacientes que presentaron componente monoclonal IgG/Kappa (CM G/K)
4. Pacientes que presentaron componente monoclonal IgG/Lambda (CM G/L)

El criterio de exclusión fueron los pacientes que presentaron biclonalidad, es decir, bandas homogéneas de otras inmunoglobulinas como IgA, IgM, IgD e IgE, además de IgG.

A todos los pacientes se les realizó proteinograma en suero mediante electroforesis capilar (EC) (CAPILLARYS 2 Flex Piercing - Sebia)<sup>6,7</sup>, tipificación del clon sobreexpresado por inmunofijación en suero (HYDRASYS 2 SCAN - Sebia)<sup>8,9</sup> y cuantificación de subclases de inmunoglobulina G por nefelometría (BN ProSpec – SIEMENS).<sup>10</sup>

Se realizó el análisis estadístico mediante el test de Chi cuadrado (X<sup>2</sup>) y test de Fisher. Se consideró una diferencia significativa p < 0,05. El análisis se llevó a cabo con el uso de XSLSTAT.

**Tabla I.** Distribución de subclases de IgG en MGUS y MM.

Tipo de Subclase de IgG	MGUS [0,16-1,92] g/dl		MM [2,10-7,55] g/dl	
	N	%	N	%
1	101	65,58	39	25,32
2	3	1,95	1	0,65
3	2	1,30	3	1,95
4	3	1,95	2	1,30

► MGUS, gammopatía monoclonal de significado incierto; MM, mieloma múltiple; n, tamaño de la población.

**Resultados**

Se estudiaron 154 pacientes diagnosticados con MGUS (n = 109), cuyo rango de concentración de pico monoclonal obtenido en el proteinograma por electroforesis capilar osciló entre 0,16 y 1,92 g/dl, y pacientes diagnosticados con MM (n = 45), cuyo rango de concentración de pico osciló entre 2,01 y 7,55 g/dl, respectivamente.

Los pacientes se dividieron en 8 grupos por tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada, según fueran:

1. Pacientes con MGUS IgG<sub>1</sub> (n = 101)
2. Pacientes con MGUS IgG<sub>2</sub> (n = 3)
3. Pacientes con MGUS IgG<sub>3</sub> (n = 2)
4. Pacientes con MGUS IgG<sub>4</sub> (n = 3)
5. Pacientes con MM IgG<sub>1</sub> (n = 39)
6. Pacientes con MM IgG<sub>2</sub> (n = 1)
7. Pacientes con MM IgG<sub>3</sub> (n = 3) y
8. Pacientes con MM IgG<sub>4</sub> (n = 2).

La distribución de las subclases de inmunoglobulinas G correspondientes a los pacientes con MGUS y MM se observa en la tabla I y la figura I.

La distribución de las subclases de IgG 1, 2 y 4 fue similar, en los pacientes con MGUS, a los que presentaban MM, mientras que se destaca la inversión de la distribución de la subclase 3 de IgG, mayoritaria para el caso de MM. Se evidenció además una expresión predominante de IgG<sub>1</sub> en ambos trastornos proliferativos.

Continuando con el análisis, a los 109 pacientes diagnosticados con MGUS, se los dividió posteriormente en 8 grupos, según el tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada y cadena liviana acompañante:

1. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>1</sub>/Kappa (n = 61)
2. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>2</sub>/Kappa (n = 3)
3. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>3</sub>/Kappa (n = 1)
4. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>4</sub>/Kappa (n = 2)
5. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>1</sub>/Lambda (n = 40)
6. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>2</sub>/Lambda (n = 0)
7. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>3</sub>/Lambda (n = 1) y
8. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>4</sub>/Lambda (n = 1).

La distribución de las cadenas livianas en cada grupo de subclase de inmunoglobulina G correspondientes a los pacientes con MGUS se observa en la tabla II.

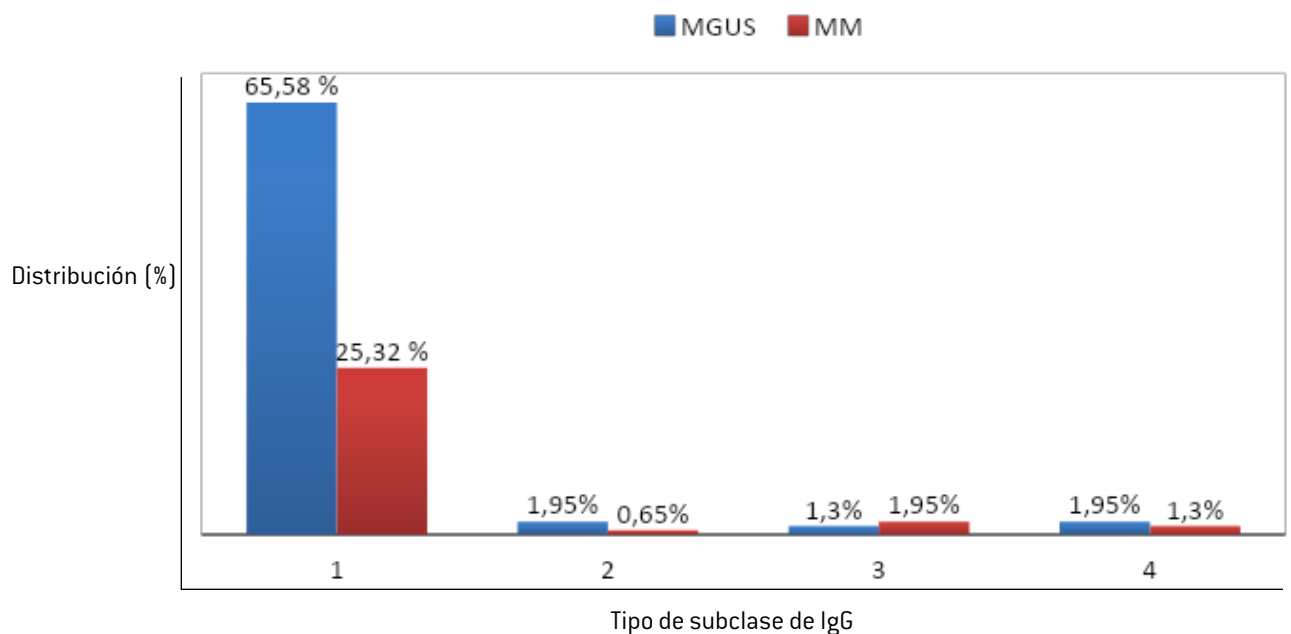
Las prevalencias de cadena liviana Kappa en los grupos de subclases IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub> fueron similares a las prevalencias de cadena liviana Lambda en los mismos grupos mencionados de subclases de IgG, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas (p = 0,41; 0,43, 0,74 y 0,85, respectivamente).

Por otra parte, los 45 pacientes diagnosticados con MM se dividieron en 8 grupos, según tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada y cadena liviana acompañante:

1. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>1</sub>/Kappa (n = 23)
2. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>2</sub>/Kappa (n = 1)
3. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>3</sub>/Kappa (n = 1)
4. Pacientes con banda homogénea IgG<sub>4</sub>/Kappa (n = 2)
5. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>1</sub>/Lambda (n = 16)
6. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>2</sub>/Lambda (n = 0)
7. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>3</sub>/Lambda (n = 2) y
8. Pacientes con componente monoclonal IgG<sub>4</sub>/Lambda (n = 0).

La distribución de las cadenas livianas en cada grupo de subclase de inmunoglobulina G correspondientes a los pa-

**Figura 1.** Distribución de subclases de IgG en MGUS y MM.



► MGUS, gammapatía monoclonal de significado incierto; MM, mieloma múltiple.

**Tabla II.** Distribución de cadenas livianas en cada grupo de subclase de IgG en MGUS.

Cadena liviana	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Kappa	61	55,96	3	2,75	1	0,92	2	1,83
Lambda	40	36,70	0	0	1	0,92	1	0,92

► MGUS, gammapatía monoclonal de significado incierto; n, tamaño de la población.

cientes con MM se observa en la tabla III.

Las prevalencias de cadena liviana Kappa en los grupos de subclases IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub> fueron similares a las prevalencias de cadena liviana Lambda en los mismos grupos mencionados de subclases de IgG y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,72, 0,41, 0,33$  y  $0,24$ , respectivamente).

### Discusión

En los 8 grupos clasificados según tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada por patologías (MGUS y MM), la frecuencia de IgG<sub>1</sub> fue la mayoritaria, lo cual mostraría una tendencia dependiente de esta subclase en los trastornos proliferativos derivados de la estimulación crónica con Ag, que subyace al inicio de MGUS y MM. Sin embargo, en aquellos pacientes que presentaron MGUS, las subclases IgG<sub>2</sub> e IgG<sub>4</sub> mostraron un aumento, mientras que se evidenció un descenso en los casos con MM. Esta tendencia se invirtió en el caso de la IgG<sub>3</sub>, mayoritaria en los casos que presentaron MM.

En consecuencia, como establecieron Stephanie Kapelski et col.<sup>11</sup>, el potencial patogénico de cada subclase de IgG difiere, ya que exhiben una tremenda variedad de funciones con distintas capacidades para activar la cascada clásica del complemento mediada por las propiedades estructurales de la región bisagra y/o por la estructura del sitio de unión de C1q ubicado en los dominios CH2, como se desprende de la distribución de subclases en distintos trastornos.

Por otra parte, en el análisis de las cadenas livianas acom-

pañantes, la presencia de Kappa o Lambda resultó ser independiente del tipo de subclase de inmunoglobulina G implicada en MGUS y MM y se mantuvo la relación fisiológica 2:1.

Es por ello que en este punto cabe destacar que sería una herramienta de interés la aplicación de los ensayos de *Free light chain*, con la incorporación del índice “cadena involucrada/no involucrada”<sup>12-14</sup>, ya que es reconocido como biomarcador de malignidad en los criterios diagnósticos de MM, para evaluar así la relación entre las subclases de IgG y la diferencia de cadenas que se correlacionen con la síntesis monoclonal de Kappa y Lambda de los pacientes.

Luego de arribar a estas conclusiones, consideramos que el estudio sienta las bases para profundizar en la caracterización y prevalencia de las subclases de IgG con su cadena liviana acompañante en gammopatía monoclonal de significado indeterminado y mieloma múltiple, como herramienta de importancia diagnóstica y pronóstica, aumentando el número de casos y, adicionalmente, el análisis de los pacientes en respuesta al tratamiento, y que resulta de interés para estimar las fluctuaciones de las distintas subclases de IgG a lo largo de la evolución de la patología.

### Referencias bibliográficas

1. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol.* 2003; 121(5):749-57.
2. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia.* 2009; 23(1): 3-9.

**Tabla III.** Distribución de cadenas livianas en cada grupo de subclase de IgG en MM.

Cadena liviana	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Kappa	23	51,11	1	2,22	1	2,22	2	4,44
Lambda	16	35,56	0	0	2	4,44	0	0

► MM, mieloma múltiple; n, tamaño de la población.

3. Bosseboeuf A, Feron D, Tallet A, Rossi C, Charlier C, Garderet L. Monoclonal IgG in MGUS and multiple myeloma targets infectious pathogens. *JCI Insight*. 2017; 2(19):e95367.
4. Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014; 5:520.
5. Kramer CSM, Franke-van Dijk MEI, Priddey AJ, Pongrácz T, Gnudi E, Car H et al. Recombinant human monoclonal HLA antibodies of different IgG subclasses recognising the same epitope: Excellent tools to study differential effects of donor-specific antibodies. *HLA*. 2019; 94(5):415-24.
6. Bouayadi O, Bensalah M, Rahmani N, Assoufi S, Choukri M. Serum protein electrophoresis: study of 410 electrophoretic profiles. *Pan Afr Med J*. 2019; 32:161. 7. Sebia. Capillarys protein [e] 6 Ref. 2003. France: Sebia; 2019.
8. Wu Y, Yang X, Wang T, Wang H, Li Z. Identification of M protein from filter paper using serum protein and immunofixation electrophoresis. *Am J Clin Pathol*. 2012; 138(4):604-8.
9. Sebia. Hydragel 9 IF Violet Acide Ref. 4309. France: Sebia; 2018.
10. Siemens. BN ProSpec. Version 2.1 Germany: Siemens healthcare diagnostics; 2014.
11. Stephanie Kapelski, Erna Cleiren, Ricardo M. Attar, Ulrike Philippar, Julien Häsler, Mark L. Chiu. Influence of the bispecific antibody IgG subclass on T cell redirection. *MABS*. 2019; 11(6):1012-24.
12. Ting HY, Sthaneshwar P, Bee PC, Shanmugam H, Lim M. Heavy/light chain assay in the monitoring of multiple myeloma. *Pathol*. 2019; 51(5):507-511.
13. Henriot B, Rouger E, Rousseau C, Escoffre M, Sébillot M, Bendavid C et al. Prognostic value of involved/uninvolved free light chain ratio determined by Freelite and N Latex FLC assays for identification of high-risk smoldering myeloma patients. *Clin Chem Lab Med*. 2019; 57(9):1397-1405.
14. Martellosio JP, Leleu X, Roblot P, Martin M, Puyade M. Free light chains assay: Indications and methods. *Rev Med Interne*. 2019; 40(5):297-305.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Estado del arte en el área de proteínas. Resultados de la encuesta realizada por el Foro de Proteínas desde octubre de 2018 a marzo de 2019 en Argentina

*State of the art in the protein study field. Results of the survey carried out by the protein forum from October 2018 to March 2019 in Argentina*

Acastello, Nélide Esther<sup>1</sup>; Arco, Silvia Estela<sup>2</sup>; Baquio, María Isabel<sup>3</sup>; Bovone, Nora Silvia<sup>4</sup>; Crispiani, Isabel Amalia<sup>5</sup>; De Marco, Beatriz<sup>6</sup>; Desimone, Isabel Viviana<sup>7</sup>; Factorovich, Adriana Marcela<sup>8</sup>; Fernandez, Diego Javier<sup>9\*</sup>; García, Mónica Alicia<sup>10</sup>; Giani, Miriam Patricia<sup>4</sup>; Lorenzon, María Victoria<sup>11</sup>; Lunazzi, Graciela<sup>12</sup>; Madalena, Leticia Bibiana<sup>13</sup>; Nievez, Luciano David<sup>7</sup>; Osatinsky, Raquel<sup>14</sup>; Pijuan, María Carla<sup>15</sup>; Ríos, María de Lourdes<sup>16</sup>; Santoro, Silvina Andrea<sup>6</sup>; Tavella de Del Río, Ofelia<sup>17</sup>

<sup>1</sup>Policlínica Obra Social Bancaria Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio Hidalgo. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto de Bioquímica Clínica. Rosario, Santa Fe, Argentina.

<sup>4</sup>Laboratorio de Proteínas y Autoinmunidad. Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. El Palomar, Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup>Laboratorio Pérez Crispiani. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>6</sup>Laboratorio Central, Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>7</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Evita. Lanús, Buenos Aires, Argentina.

<sup>8</sup>Laboratorio Central, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>9</sup>Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>10</sup>Laboratorio Bioquímico Dra. García. Castelar. Buenos Aires, Argentina.

<sup>11</sup>Laboratorio Central, Hospital Italiano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>12</sup>Hospital Interzonal General de Agudos Dr. Paroissien. Isidro Casanova, Buenos Aires, Argentina.

<sup>13</sup>Laboratorio de Proteínas. Universidad de Buenos Aires. Hospital de Clínicas, José de San Martín. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>14</sup>Laboratorio Manlab. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>15</sup>Instituto de Análisis Fares Taie. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>16</sup>Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Carlos G. Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>17</sup>Laboratorio Central, Hospital Militar Central Cirujano Mayor Dr. Cosme Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Fernandez, Diego Javier; Laboratorio Central. Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich, Pi y Margall 750, C1155 AHD, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, [forodeproteinasargentina@gmail.com](mailto:forodeproteinasargentina@gmail.com).

**Resumen** Introducción: el laboratorio clínico es uno de los pilares para la caracterización de las gammopatías monoclonales tanto en la etapa diagnóstica como en el monitoreo del tratamiento. Sin embargo, ante la heterogeneidad observada tanto en las metodologías utilizadas como en la confección del informe de los estudios proteicos, surge, desde el Foro de Proteínas, la necesidad de conocer la situación del área de proteínas a nivel nacional. Objetivo: relevar las metodologías utilizadas y la forma de expresión de los resultados en los laboratorios de análisis clínicos de la República Argentina para la detección, cuantificación y tipificación de los componentes monoclonales. Materiales y Métodos: desde el mes de octubre de 2018 hasta febrero de 2019, se envió una encuesta voluntaria y anónima a diferentes laboratorios para conocer el estado del arte en el estudio de gammopatías monoclonales. Resultados: se obtuvieron 270 respuestas provenientes de todo el país, en total. El 64,4 % realiza el proteinograma electroforético en su laboratorio, y el 44,8 % lo efectúa sobre gel de agarosa. El 87,3 % expresan las distintas fracciones en g/dl y el 62,6 % incluye tanto el valor porcentual como el absoluto. El 67,2 % de los participantes cuantifica el componente monoclonal. Conclusiones: las respuestas obtenidas evidencian la falta de homogeneidad en los ítems evaluados. Al focalizar en estos aspectos, surge la necesidad de elaborar en un futuro un consenso para la unificación de criterios tanto metodológicos como de presentación de resultados.

**Palabras clave:** proteinograma electroforético, componente monoclonal, encuesta, informe.

**Abstract** Introduction: The clinical laboratory has a main role in the characterization of monoclonal gammopathies not only during the diagnostic stage but also during the treatment monitoring. However, given the heterogeneity observed both in the methodologies used and in the report of protein studies, the Protein Forum wants to know the situation of the protein study field in Argentina. Objective: To survey the methodologies used and the form of expression of the results in the clinical analysis laboratories of Argentina for the detection, quantification and typification of monoclonal components. Materials and Methods: From October 2018 to February 2019, a voluntary and anonymous survey was sent to different laboratories, to know the state of the art in the study of monoclonal gammopathies. Results: A total of 270 responses were obtained from all over the country. Results showed that: 64.4% perform the electrophoretic proteinogram in their laboratory, whereas 44.8% perform it on agarose gel; 87.3% express the different fractions in g/dl, whereas 62.0% include both the percentage and absolute value; and 67.2% of the participants quantify the monoclonal component. Conclusions: The responses obtained show the lack of homogeneity in the items evaluated. Focusing on these aspects, a consensus will be written for the unification of both methodological criteria and the presentation of results.

**Keywords:** electrophoretic proteinogram, monoclonal component, survey, report.

## Introducción

Las gammopatías monoclonales (GM) se caracterizan por la proliferación maligna de un clon de células plasmáticas, que tiene la capacidad de producir una inmunoglobulina o fragmento de ella y que, generalmente, puede detectarse en sangre u orina. El laboratorio juega un rol central en la investigación de estas proteínas monoclonales, que se comportan como marcador tumoral de las discrasias de células plasmáticas.

Diversas sociedades científicas que se dedican al estudio de estas hemopatías como, por ejemplo, el *International Myeloma Working Group*, publican periódicamente estrategias de trabajo consensuadas por especialistas, tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de las GM<sup>1</sup>. Estos documentos contienen actualizaciones de los criterios diagnósticos, paneles de screening y metodologías de trabajo recomendadas. Sin embargo, la ausencia de propuestas específicas respecto del reporte de los estudios proteicos séricos y urinarios genera una gran variabilidad en los informes emitidos por diferentes laboratorios. Trabajando en la búsqueda de consensos, tanto la Asociación de Bioquímica Clínica Australiana como la Sociedad Canadiense de Química Clínica han aportado en la última década valiosas recomendaciones con el objeto de estandarizar el informe del proteinograma electroforético (PE).<sup>2,3</sup>

La técnica de electroforesis permite detectar, en numerosas situaciones, el componente monoclonal (CM) presente en sangre u orina y cuantificarlo por densitometría o espectrofotometría.<sup>4-8</sup> Los componentes monoclonales suelen migrar mayoritariamente en la región gamma, y pueden hacerlo en beta o, menos frecuentemente, en alfa. Se recurre a métodos automatizados, semiautomatizados o manuales para realizar la corrida electroforética sobre soportes sólidos (agarosa y acetato de celulosa) o líquidos (electroforesis capilar).<sup>9,10</sup>

La cuantificación del CM resulta un dato clave para el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de las GM.<sup>11-13</sup> Los equipos y softwares más modernos permiten cuantificar el pico de diferentes formas (perpendicular a línea de base o tangencial), aunque todavía está en discusión, a nivel mundial, cuál es la metodología más adecuada.<sup>14</sup>

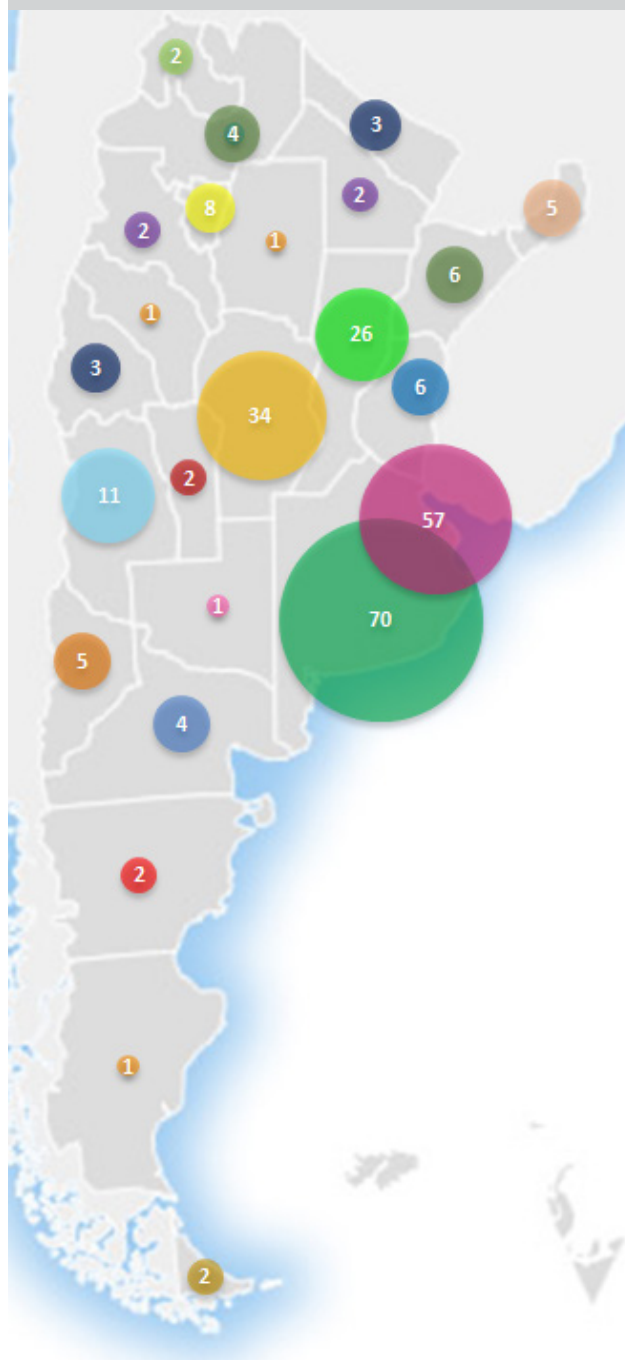
Al analizar la expresión de resultados de los estudios proteicos, se observa una falta de homogeneidad en varios aspectos: unidades de concentración, nomenclatura y formato del informe.<sup>2,15,16</sup> Todas estas variables marcan la necesidad de conocer la forma de trabajo del área dedicada al estudio de proteínas. Es por ello que, desde el Foro de Proteínas, se propuso realizar una encuesta a nivel nacional, con el objetivo de conocer la metodología adoptada en los laboratorios de análisis clínicos del territorio nacional para la detección, cuantificación y tipificación de los componentes monoclonales y la expresión de los resultados obtenidos a partir del proteinograma electroforético.

La información recabada se utilizará como punto de partida para la redacción de un acuerdo con el fin de unificar criterios respecto del procesamiento e interpretación bioquímica del informe del proteinograma electroforético.

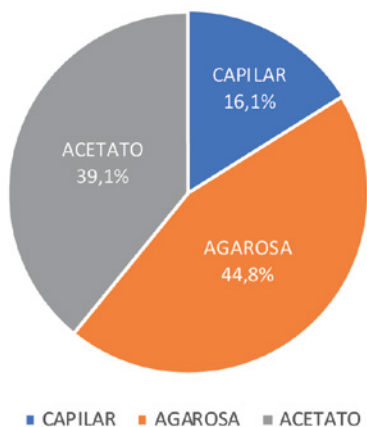
## Materiales y métodos

Desde el mes de octubre de 2018 hasta febrero de 2019, se envió una encuesta voluntaria y anónima, en formato de formulario de Google, a diferentes laboratorios del ámbito público y privado, a nivel nacional, para conocer el estado del arte en la investigación de GM. Con la difusión colaboraron: la Asociación Bioquímica Argentina (ABA), la revista de difusión científica *Novedades Bioquímicas*, colegios bioquímicos regionales, *Wiener Lab. S.A.I.C.* y distintas redes sociales. Las preguntas fueron diseñadas con formato de opciones múltiples y se recabó información únicamente respecto de las técnicas realizadas en los propios laboratorios.

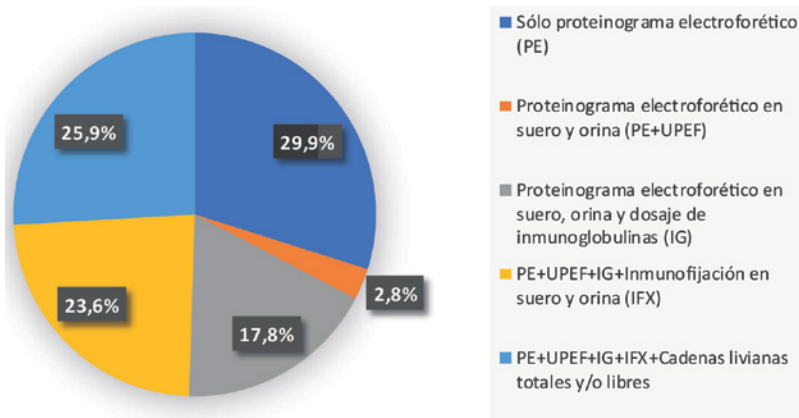
Figura 1. Laboratorios participantes del estudio.



**Figura 2.** Soporte del proteinograma electroforético.



**Figura 3.** Metodologías empleadas en el área de Proteínas en los distintos laboratorios encuestados.



**Resultados**

**Demográficos: distribución de laboratorios por provincia**

Se obtuvieron 270 respuestas provenientes de todo el territorio nacional y se logró obtener, al menos, 1 respuesta de cada provincia. La provincia con mayor participación fue Buenos Aires, con un 25,9 % (70/270), seguida por la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, con 21,1% (57/270), Córdoba, con 12,6 % (34/270) y Santa Fe, con 9,6 % (26/270) (Figura 1).

**Metodología: soporte utilizado y técnicas disponibles**

De los 270 laboratorios que participaron de la encuesta, el 64,4 % (174/270) realiza el PE en su propio establecimiento, mientras que un 35,6 % (96/270) lo deriva a otra institución. El PE sobre soporte sólido resultó ser la metodología más utilizada, ya que el 44,8 % (78/174) realiza PE sobre gel de agarosa, 39,1 % (68/174), sobre acetato de celulosa y un 16,1 %

(28/174) utiliza electroforesis capilar (Figura 2).

El 29,9% (52/174) solo realiza el PE sérico en su laboratorio. El 2,8% (5/174) realiza tanto PE como uroproteinograma electroforético (UPEF), mientras que el 25,9% (45/174) realiza todas las técnicas relevadas en su laboratorio (Figura 3).

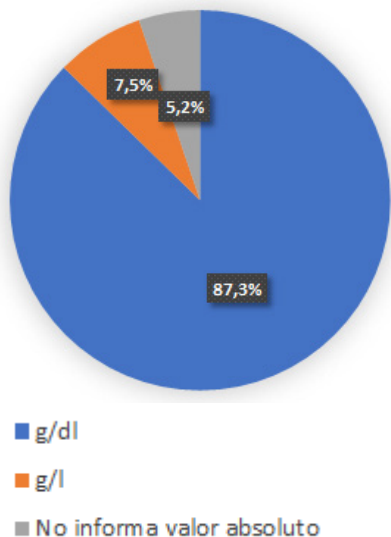
**Informe del PE: expresión de resultados y denominación del CM**

Con respecto a las unidades en las que se expresan las distintas fracciones, la encuesta mostró que la mayoría de los laboratorios, un 87,3 % (152/174), lo hace en g/dl, mientras que un 7,5 % informa en g/l (Figura 4a).

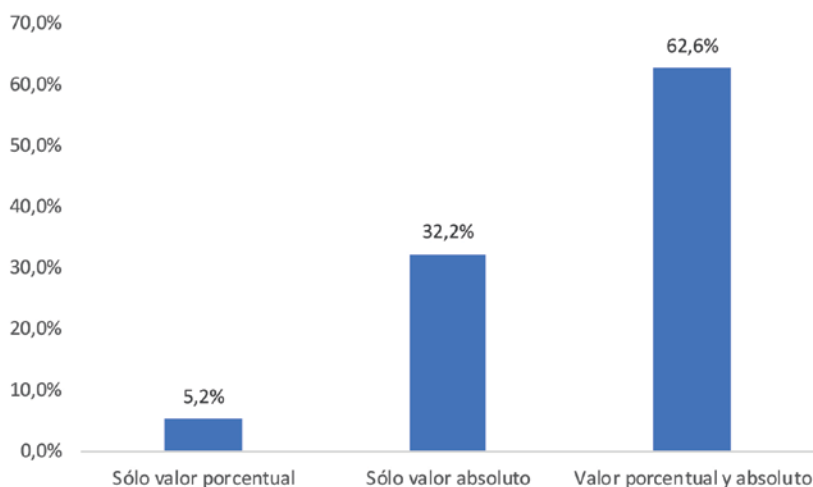
En cuanto a la forma de expresión de resultados, un 62,6 % (109/174) incluye tanto el valor porcentual como el absoluto en el informe, mientras que un 5,2 % (9/174) informa únicamente valores porcentuales (Figura 4b).

Ante la presencia de un pico en el trazado electroforético, si

**Figura 4a.** Unidades de expresión de las fracciones proteicas.



**Figura 4b.** Forma de expresión de las fracciones proteicas.



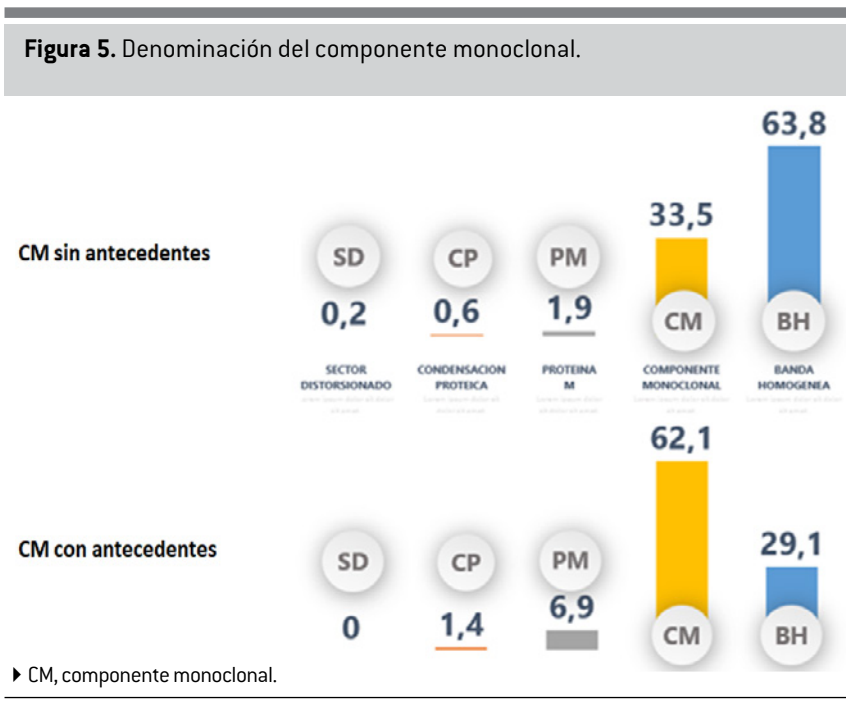
el mismo no tiene antecedente alguno y/o es la primera vez que se detecta en el paciente, el 63,8 % (111/174) utiliza el término “banda homogénea” para nombrarlo; en cambio, cuando el pico ya fue caracterizado mediante técnicas inmuno-electroforéticas y/o tiene antecedentes de laboratorio o clínicos, el término utilizado por el 62,1 % de los participantes (108/174) pasa a ser “componente monoclonal” (Figura 5).

Gran parte de los laboratorios incluye en el informe la movilidad del pico. Un 70,1 % (122/174) indica si está presente en zona alfa, beta-1, beta-2 o gamma y un 58,0 % (101/174) expresa, además, su posición relativa, si el pico está presente en zona gamma, como gamma rápida, media o lenta respecto de su proximidad a la fracción de las betaglobulinas. Algunos participantes incluyen, además, una breve descripción de la zona gamma, tales como “CM sobre hipogammaglobulinemia” o “CM sobre fondo policlonal”.

La curva densitométrica se encuentra presente en el informe del 54,0 % (94/174) de los laboratorios. La mayoría de los participantes lleva un registro de los pacientes que presentan GM, sin embargo, el 85,0 % (148/174) no incluye esos antecedentes en el informe ni hace comentarios con respecto a cambios en la concentración del CM.

### Cuantificación del componente monoclonal

Respecto de la cuantificación del CM en zona gamma, un 32,8 % (57/174) de los participantes no la realiza. Tomando en cuenta los 117 laboratorios que sí cuantifican el CM, un 86,3 % (101/117) informa la concentración del mismo como parte de la zona gamma, mientras que un 13,7 % (16/117) resta su concentración al total de la zona gamma (Figura 6).



El método de medida del CM en zona gamma más utilizado es la forma perpendicular a la línea de base, elegido por el 86,4 % (150/174) de los encuestados y sólo 13,6 % (24/174) lo hace con el método tangencial (Figura 7). En cambio, cuando el CM se encuentra en las fracciones de las alfa o beta globulinas, el 59,8 % (104/174) no lo cuantifica (Figura 8).

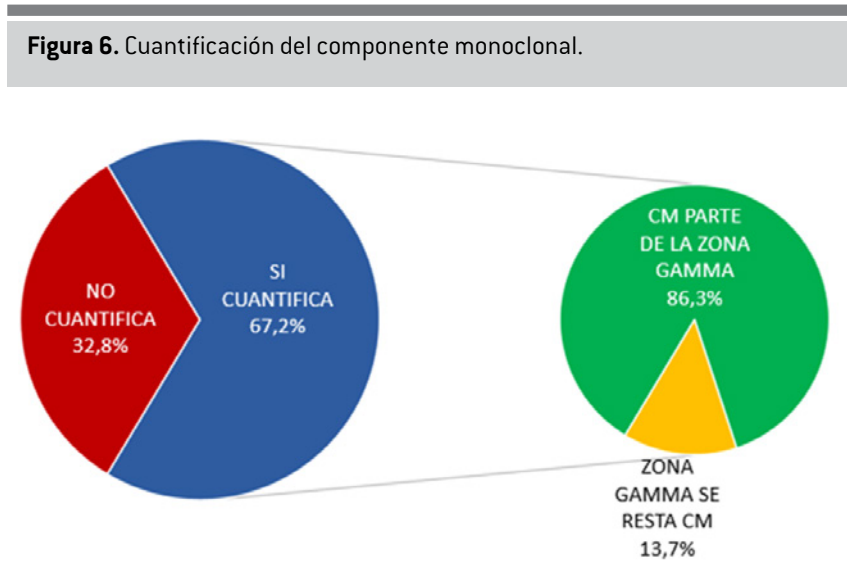
Cabe aclarar que, si bien son 117 los laboratorios que cuantifican el CM en zona gamma, los laboratorios que no lo hacen también respondieron sobre si medirían el componente monoclonal de forma perpendicular a la línea de base o de forma tangencial.

### Interpretación de la inmunofijación

Se consultó de forma teórica a los 174 laboratorios que realizan el proteinograma en su propia sede sobre cómo proceder frente a una IF sérica donde sólo se visualiza inmunoprecipitado frente a cadena liviana (kappa o lambda) y no, frente a cadenas pesadas (gamma, alfa o mu). Un 20,1 % (35/174) respondió que realiza una segunda IF incorporando antisueños frente a cadenas livianas kappa y lambda libres y/o anti cadenas pesadas delta y epsilon. Un 44,8 % (78/174) sugiere una segunda IF con los antisueños mencionados anteriormente y un 23,0 % (40/174) no realiza ni sugiere estudios complementarios (Figura 9).

### Discusión

En la encuesta participaron, al menos, un laboratorio por provincia de distintos ámbitos de la Salud. Se recibieron respuestas de laboratorios tanto públicos como privados. El mayor porcentaje de



**Figura 7.** Medida de componente monoclonal en zona gamma.

### METODO DE MEDIDA CM



participación correspondió a las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y a la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

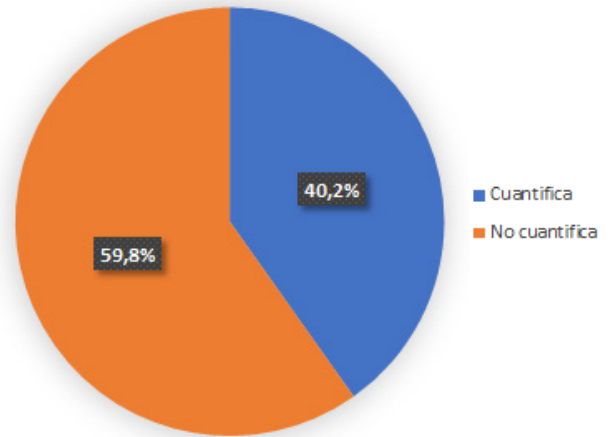
Teniendo en cuenta el carácter voluntario del sondeo, el número de laboratorios participantes (270) revela el interés de los mismos en trabajar en pos de una armonización metodológica.

De acuerdo con los datos recabados, la electroforesis en gel de agarosa resultó ser el método más utilizado. Sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre en los países más desarrollados, un alto porcentaje de los encuestados aún utiliza acetato de celulosa con metodologías manuales o semiautomatizadas.

Respecto del número de técnicas utilizadas para el estudio de GM, este varía de acuerdo con las características del área de proteínas con que cuenta el laboratorio. Así, los laboratorios con alta prevalencia de patologías hematológicas disponen usualmente de técnicas con mayor resolución y realizan otras determinaciones indispensables para el estudio de GM, como son el uroproteinograma, inmunofijación en sangre y orina y dosaje de cadenas livianas libres (CLL).

Si bien la cuantificación del CM de forma perpendicular a la línea de base es la metodología que se utiliza desde hace varias décadas, algunos *softwares* actuales incorporan la medida

**Figura 8.** Medida de componente monoclonal en zona no gamma.



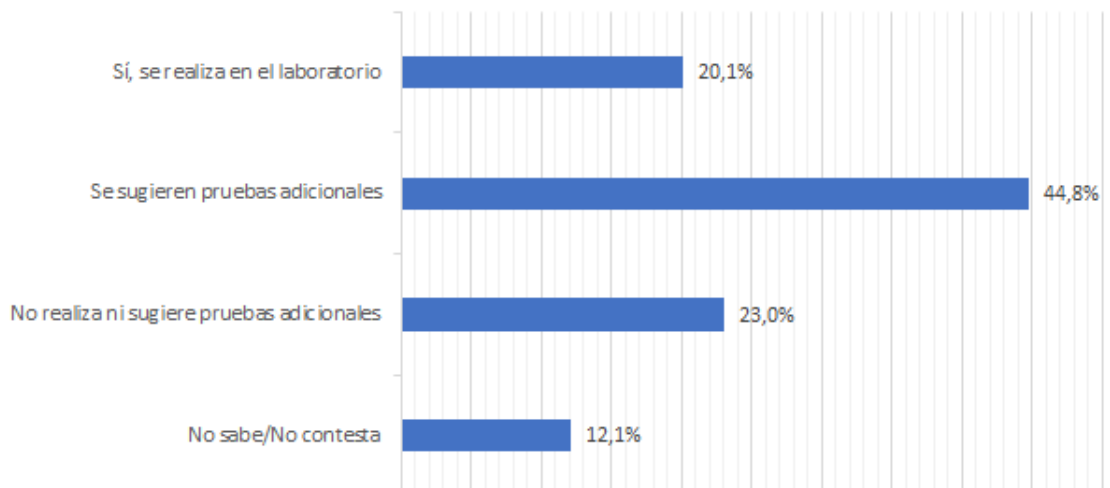
por método tangencial. Ambas técnicas presentan ventajas y desventajas, pero debe remarcar la importancia de hacer el seguimiento del paciente siempre por el mismo método.<sup>17,18</sup>

Cuando el CM migra en zona alfa o beta, se presentan dificultades para su cuantificación. De acuerdo con la encuesta, la mayoría de los laboratorios no mide dichos picos. Sin embargo, se puede recurrir a diferentes alternativas que permiten hacer seguimiento cuantitativo del CM.<sup>19</sup>

Por último, frente a la pregunta de interpretación del resultado de una inmunofijación donde se observa solo precipitación monoclonal frente a una cadena liviana y precipitación policlonal frente a las cadenas pesadas gamma, alfa y mu, el 65,3 % de los bioquímicos realizan o sugieren los estudios pertinentes, mientras que un 34,7 % no realiza ninguna otra acción, lo que llevaría a un resultado erróneo o incompleto. Cabe destacar que esta pregunta responde a un primer sondeo sobre una de las técnicas complementarias al PE.

Como conclusiones de este estudio se puede afirmar que

**Figura 9.** Interpretación de un caso de inmunofijación.



la falta de consensos a nivel mundial sobre cómo informar los estudios proteicos séricos y urinarios obligaron a los profesionales del área a recabar información en cuanto a las técnicas utilizadas, nomenclatura y diseño del informe de resultados en nuestro país. Esta primera encuesta fue enfocada especialmente en la búsqueda y cuantificación del CM a través del PE.

Se observa una variabilidad en las respuestas de los siguientes ítems evaluados: soporte utilizado, unidades de medida de las fracciones proteicas del proteinograma, nomenclatura (uso del término “banda homogénea” o “componente monoclonal” según antecedentes), informe de la movilidad del CM y breve descripción de zona gamma, cuantificación del CM.

El abordaje de otros temas como la tipificación del CM mediante IF y otras técnicas útiles para el diagnóstico de GM deberán ser enriquecidos con futuros trabajos.

### Autores

El Foro de Proteínas está integrado por un grupo de profesionales especialistas en el área Proteínas, que se reúne periódicamente y de forma ininterrumpida desde el año 2007 en la sede de la Asociación Bioquímica Argentina para consensuar criterios que puedan ser utilizados como herramientas en la transmisión de resultados clínicamente útiles. Desde su creación, cuenta con la participación de la referente y consultora, Dra. Raquel Osatinsky. Actualmente, está integrado por 20 profesionales tanto del ámbito público como privado de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, de la Provincia de Buenos Aires y de la Provincia de Santa Fe.

### Agradecimientos

Se agradece a la Asociación Bioquímica Argentina (ABA), a la revista de Novedades Bioquímicas, a los colegios bioquímicos regionales, y a *Wiener Lab.* S.A.I.C, que nos permitieron difundir la encuesta en todo el país.

### Referencias bibliográficas

- Rajkumar S, Dimopoulos M, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12): 538-48.
- Tate J, Caldwell G, Daly J, Gillis D, Jenkins M, Jovanovich S, et al. Working Party on Standardised Reporting of Protein Electrophoresis. Recommendations for standardized reporting of protein electrophoresis in Australia and New Zealand. *Ann Clin Biochem.* 2012;49(Pt 3): 242-56.
- Bootha R, McCudden C, Balionb C, Blasutig I, Byouhtiauyd I, Rodriguez-Capotee K, et al. Candidate recommendations for protein electrophoresis reporting from the Canadian Society of Clinical Chemists Monoclonal Gammopathy Working Group. *Clin Biochem.* 2018;51: 10-20.
- Osatinsky R. Las proteínas séricas. Buenos Aires. Argentina: Emma Fiorentino. Publicaciones Técnicas S.R.L.; 2012.
- Vavricka S, Burri E, Beglinger C, Degen L, Manz M. Serum Protein Electrophoresis: An Underused but Very Useful Test. *Digestion.* 2009;79(4): 203-210.
- Karcher R, Launders JP. Electrophoresis. En: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns D. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis.* St Louis: Elsevier Saunders. 2006;121:40.
- Mc Taggart M, Kearney E. Evidence-based use of serum protein electrophoresis in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2012;51: 1-3.
- Kohn J. A cellulose acetate supporting medium for zone electrophoresis. *Clin Chem Acta.* 1957;2(4):297-303.
- Jolliff CR, Blessum CR. Comparison of serum protein electrophoresis by agarose gel and capillary zone electrophoresis in a clinical setting. *Electrophoresis.* 1997;18(10):1781-4.
- Lissoir B, Wallemacq P, Maisin D. Électrophorèse des protéines sériques: comparaison de la technique en capillaire de zone Capillarys (Sebia) et de l'électrophorèse en gel d'agarose Hydrasys (Sebia). *Ann Biol Clin.* 2003;61(5): 557-62.
- Kyle R, Willricha M, Murraya D. Laboratory testing for monoclonal gammopathies: Focus on monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *Clin Biochem.* 2018; 51:38-47.
- Katzmann J, Kyle R, Benson J, Larson D, Snyder M, Lust J, et al. Screening Panels for Detection of Monoclonal Gammopathies. *Clini Chem* 2009; 55(8) 1517-22.
- Bravo García-Morato M, Padilla-Merlano B, Nozal P, Espino M, Juárez C, Villar L et al. Guía de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con gammopatías monoclonales. *Rev Clin Esp.* 2016;216(3): 128-134.
- Keren D. Procedures for the evaluation of monoclonal immunoglobulins. *Arch Path Lab Med.* 1999;123(2):126-32.
- Pérez Surribas D, Cárdenas Fernández MC, Zapico Muñoz D. Recomendaciones sobre la separación electroforética de las proteínas plasmáticas en suero. *Documentos de la SEQC.* 2014:91-104.
- Chan PC, Chen Y, Randell EW. Monoclonal Gammopathy Interest Group (MGIG), Canadian Society of Clinical Chemists. On the path to evidence-based reporting of serum protein electrophoresis patterns in the absence of a discernible monoclonal protein – A critical review of literature and practice suggestions. *Clin Biochem.* 2018;51: 29-37.
- Mc Cudden C, Mathews S, Hainsworth S, Chapman J, Hammet-Stabler C, Willis S, et al. Performance comparison of capillary and agarose gel electrophoresis for the identification and characterization of monoclonal immunoglobulins. *Am J Clin Pathol.* 2008;129: 451-8.
- Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):947-61
- Willrich M, Katzmann J. Laboratory testing requirements for diagnosis and follow-up of multiple myeloma and related plasma cell dyscrasias. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6): 907-919.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Metaloproteínas transportadoras de hierro en plasma seminal y su posible función como moléculas reguladoras del metabolismo espermático

*Iron-binding metalloproteins in seminal plasma and their possible function as regulatory molecules of sperm metabolism*

Brufman, Adriana<sup>1,2\*</sup>; Brunori, Magalí<sup>1</sup>; Raspo, Esteban<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología de la Reproducción (LIR), Departamento de Bioquímica Clínica, Área Inmunología, Facultad de Ciencias Bioquímica y Farmacéuticas.

<sup>2</sup>Consejo de Investigaciones Universidad Nacional de Rosario (CIUNR). Rosario, Santa Fe, Argentina.

\*Contacto: Brufman, Adriana, Agrelo n° 2101 (S200500C) Rosario, Santa Fe, Argentina; abrufman@fbioyf.unr.edu.ar

**Resumen** Introducción: el plasma seminal (PS) es un modulador de la función espermática; por esta razón, es necesario caracterizar adecuadamente su composición molecular. El hierro (Fe) juega un papel importante en la espermatogénesis. En el transporte, la captación celular y el almacenamiento de hierro intervienen la transferrina (Tf), el receptor celular de membrana de la transferrina y la ferritina (FN), respectivamente. Las vías metabólicas del Fe en los testículos aún se desconocen. Objetivos: el objetivo del trabajo fue estudiar componentes bioquímicos como proteínas totales, (Pt), Fe, FN y Tf, en PS de individuos jóvenes y establecer valores referenciales para nuestro laboratorio. Luego, estos valores se relacionaron con parámetros del espermograma y producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), a fin de conocer la fisiología del hierro en el testículo. Materiales y métodos: se estudiaron 115 muestras de semen y suero; en ambos fluidos se determinó la concentración de Tf, Fe, Pt y FN. Se realizó un espermograma básico y medición de ERO (T- Bars, MOST, nitritos). Resultados y conclusión: los marcadores bioquímicos estudiados fueron significativamente diferentes en plasma seminal y suero, y no se encontró relación entre los mismos. La concentración de Tf en PS tiene una relación lineal directa con la concentración espermática y la movilidad. Se evidenció una relación inversa entre el estrés oxidativo y los niveles de Tf testicular, la cual podría deberse a su función antioxidante en PS. El conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la función espermática es de gran importancia para la elección del diagnóstico y tratamiento.

**Palabras clave:** plasma seminal, metaloproteínas, estrés oxidativo, infertilidad humana.

**Abstract** Introduction. Seminal plasma (SP) is a sperm function modulator. Thus, it is necessary to adequately characterize its molecular composition. Iron (Fe) plays an important role in spermatogenesis. The transport, cellular uptake, and storage of Fe involve transferrin (Tf), the cellular membrane receptor for Tf, and ferritin (FN), respectively. The metabolic pathways of Fe in human testes are still unknown. Objectives. The aim of the work was to study biochemical components such as total proteins (TP), Fe, FN and Tf in SP of young individuals, and to establish reference values for our laboratory. These values were then correlated to semen parameters, sperm functional tests and production of reactive oxygen species (ROS) to understand the physiology of Fe in the testis. Materials and Methods. One hundred and fifteen semen and serum samples were studied, and the concentration of Tf, Fe, TP and FN was determined in both fluids. A basic semen analysis and ROS measurement [T-Bars, MOST, Nitrites] were performed. Results and conclusions. The biochemical markers studied were significantly different in seminal plasma and serum, and no relationship was found between them. Tf concentration in SP had a direct linear relationship with sperm concentration and motility. An inverse relationship between oxidative stress and testicular Tf levels was evidenced, which could be due to its antioxidant function in SP. Knowledge of the pathophysiological mechanisms of sperm function is critical for the correct diagnosis and treatment of human infertility.

**Key words:** seminal plasma, metalloproteins, oxidative stress, human infertility.

## Introducción

La infertilidad afecta al 15 % de las parejas en todo el mundo y, en la mitad de los casos, está relacionada con el factor masculino.<sup>1</sup> Por eso, el análisis de semen constituye el paso inicial en el estudio del factor masculino en una pareja infértil.

Existe un amplio debate sobre el significado diagnóstico y pronóstico de los parámetros bioquímicos del semen, excepto en casos de pacientes con azoospermia u oligozoospermia severa, en la evaluación de la infertilidad masculina. En muchos casos, la causa de infertilidad no es identificada y se clasifica como idiopática o sin causa aparente, lo que sugiere el poco conocimiento acerca de los mecanismos básicos del proceso reproductivo.<sup>2</sup> En estos casos, el análisis de semen de rutina no explica las anomalías de la fecundación.<sup>3</sup>

El semen es una suspensión concentrada de espermatozoides, almacenada en el epidídimo, que se mezcla y diluye con secreciones de los órganos sexuales accesorios.<sup>6</sup> Está formado por el componente celular, que representa un 10 % del volumen total del eyaculado, y el acelular, llamado genéricamente "plasma seminal" (PS).<sup>4</sup>

El plasma seminal contiene lípidos, carbohidratos, iones, péptidos y proteínas, que son secretados por diferentes regiones del tracto reproductor masculino, incluidas las vesículas seminales, los conductos deferentes, las glándulas periuretrales, el epidídimo y la glándula prostática. No solo actúa como medio de transporte, protección y nutrición de los espermatozoides, sino también como modulador de la función espermática. Por esta razón, es necesario caracterizar adecuadamente la composición molecular del PS. El perfil proteico del PS es un tema en auge debido a la gran cantidad de proteínas que contiene (35 - 55 g/L). Tras una validación adicional, estas proteínas pueden ser útiles en la diferenciación clínica entre fertilidad e infertilidad, dado que ayudan a la protección al unirse a la superficie del espermatozoide durante la eyaculación y desempeñan un papel clave en la capacitación, la reacción acrosómica y la fusión de espermatozoides y óvulos. Debido a esta especificidad, podrían ser consideradas como biomarcadores para la infertilidad masculina.<sup>5</sup>

La proteómica es un enfoque novedoso para el estudio de las funciones de las proteínas y la investigación de los procesos metabólicos para comprender mejor el funcionamiento de una célula o tejido a nivel molecular.<sup>6,7</sup>

## Metaloproteínas y hierro

Las metaloproteínas son moléculas que cuentan con iones metálicos en su composición. Las funciones de las mismas son muy variadas en las células: actúan como enzimas, proteínas de transporte y almacenamiento y en la transducción de señales. Aproximadamente de un cuarto a un tercio de todas las proteínas requieren metales para llevar a cabo sus funciones.

El hierro (Fe) juega un papel importante en la espermatogénesis. Es esencial en los procesos metabólicos, pero, en exceso, puede producir toxicidad. El transporte de hierro y sus

sistemas de absorción están estrictamente regulados. En los mamíferos, su homeostasis está regulada a niveles sistémicos y celulares a través de la hormona peptídica hepcidina y las proteínas reguladoras de hierro (PRH), respectivamente. Una tercera y muy efectiva forma de regular la homeostasis de los nutrientes es mediante la compartimentalización.

La ferritina (FN) es una molécula fijadora de hierro cuya función principal es almacenar este elemento para garantizar su disponibilidad en distintas funciones celulares. También desempeña un papel importante en la inflamación, en enfermedades neurodegenerativas y cáncer.

La transferrina (Tf) es el principal transportador de hierro en la mayoría de los organismos. El 1,5 % de las proteínas totales del plasma seminal está constituido por una isoforma de la Tf, llamada "transferrina testicular (TfT)", secretada por las células de Sertoli (CS).<sup>8</sup> Las CS juegan un papel crucial en la espermatogénesis, creando el microambiente apropiado y secretando proteínas críticas para el desarrollo adecuado de los espermatozoides. El complejo de unión CS-CS crea una barrera de permeabilidad llamada "barrera hematotesticular", que es indispensable para crear una compartimentalización fisiológica dentro del epitelio seminífero para el transporte de iones, aminoácidos, carbohidratos y proteínas.<sup>9</sup>

La figura 1 muestra un modelo de transporte de hierro en testículos murinos. En el transporte, la captación celular y el almacenamiento de hierro, intervienen la Tf, el receptor celular de membrana de la Tf y la FN, respectivamente. Aunque a nivel sistémico están establecidos los caminos metabólicos del Fe, los mecanismos aún se desconocen en los testículos.<sup>10</sup>

## Especies reactivas del oxígeno (ERO)

Las ERO son producidas principalmente por leucocitos o espermatozoides anormales e inmaduros y son un subproducto natural de las vías metabólicas oxidativas. Se requieren pequeñas cantidades de ERO para asegurar las funciones fisiológicas celulares normales, incluidas la espermatogénesis, la capacitación y la reacción acrosómica.<sup>11</sup> Cuando las ERO superan a los antioxidantes, se genera un estrés oxidativo (EO), que podría afectar de forma negativa la fertilidad. Por lo tanto, la medición precisa de ERO proporciona una herramienta vital en la evaluación inicial y el seguimiento de pacientes infértiles.

El plasma seminal contiene altas cantidades de antioxidantes que protegen los espermatozoides del daño del ADN y peroxidación lipídica.<sup>12</sup>

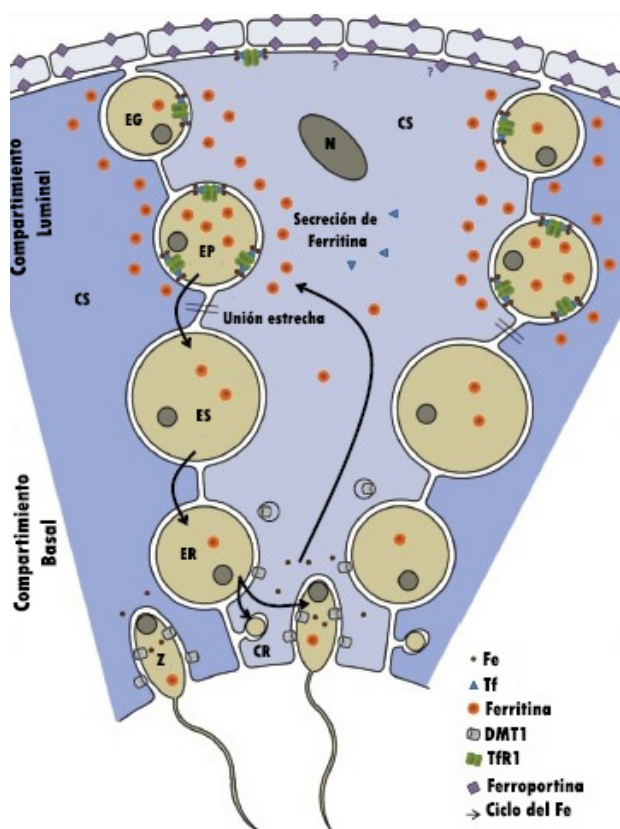
El objetivo del trabajo fue determinar las proteínas totales, hierro, ferritina y transferrina en plasma seminal en una población de individuos jóvenes y establecer valores referenciales para nuestro laboratorio; dichas determinaciones también fueron realizadas en suero para evaluar una posible relación entre los mismos. Luego, estos valores se relacionaron con parámetros del espermograma, pruebas funcionales espermáticas y producción de ERO, a fin de conocer la fisiología del hierro en el testículo.

## Materiales y métodos

Se estudiaron muestras de semen y suero de pacientes del Servicio de Urología del Hospital Escuela Eva Perón [Granadero Baigorria], Hospital Centenario [Rosario] y voluntarios sanos [edad:  $36,55 \pm 10,44$ ], desde noviembre de 2018 a septiembre de 2019.

Las muestras se obtuvieron previo consentimiento informado de los pacientes y a través de controles con autorización y aval de los profesionales tratantes, según la declaración de Helsinki. El proyecto marco de este trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Exp. 6060/368. Res. CD 592/2017. Las muestras de semen fueron recolectadas por masturbación luego de 72 h de abstinencia. Se evitó incluir muestras con bajo volumen (< 1 ml) y de pacientes con condiciones clínicas que pudieran interferir con los niveles de Tf y FN en plasma sanguíneo, tales como enfermedad hepática aguda o crónica, neoplasia, signos clínicos/laboratorio de infección/inflamación aguda o crónica por virus de hepatitis [A, B o C] infecciones, leucocitosis, fiebre, hipoproteinemia y enfermedades del metabolismo del hierro.

**Figura 1.** Modelo de compartimentalización de hierro en testículos.



► Se muestran tres CS y sus alrededores. La transferrina cede el hierro a las células germinales y los espermatocitos maduros lo devuelven al medio intratubular para ser almacenado por la ferritina. TS túbulo seminífero, EG espermatogonia, EP espermatocito primario, CS célula de Sertoli, Z espermatozoide, TfR1 receptor de transferrina, CR cuerpo residual.

## Procesamiento de las muestras de semen

Las muestras de semen, luego de su licuefacción (30 - 60 minutos de su recolección), fueron utilizadas para espermograma básico, según normas OMS 2010<sup>13</sup> y test funcionales. Posteriormente, se tomó una alícuota de 500  $\mu$ l para la técnica de *swim-up*. El resto de la muestra de semen se centrifugó por 30 minutos a una velocidad de 5.000 rpm por 10 min y el sobrenadante resultante, el plasma seminal, se colocó en un tubo Eppendorf® de 1,5 ml, se centrifugó nuevamente para eliminar las células remanentes y se conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis.

## Movilidad y concentración espermática

Para evaluar la movilidad espermática, se homogenizó la muestra y se colocaron 10  $\mu$ l en un portaobjetos. Se observaron con el microscopio de contraste de fase (Nikon Labophot2) 5 campos al azar con un aumento de 400x y se consideró el siguiente orden de categorías: MP, NP e I. El examen de movilidad se realizó por duplicado. Los valores de las distintas categorías se informaron como porcentajes de cada uno de los recuentos. Se definió como el límite de referencia inferior [LRI] para la movilidad total (MP+NP) un 40 % y para la MP del 32 %.<sup>13</sup>

Para determinar la concentración espermática, se realizó una dilución con *Mac Comber y Saunders* [NaHCO 35 % (p/v), Formol 40 % 1 % (v/v)]. El recuento se llevó a cabo por duplicado en Cámara de Neubauer (Boeco, Hamburg, HA, Alemania). El LRI para concentración es de  $15 \times 10^6$  espermatozoides/mL.

## Preparación de muestras de suero

La recolección de 10 ml de sangre sin anticoagulante se realizó previa venopunción de miembro superior. Luego de la exudación de la muestra de sangre [aproximadamente 30 minutos en baño María a  $37^{\circ}\text{C}$ ], se centrifugó a 3.500 rpm durante 10 minutos. El suero se conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la realización de las determinaciones de laboratorio.

## Determinaciones bioquímicas

La determinación de Fe y Tf se realizó por método colorimétrico, en tanto FN se determinó por método inmunoturbidimétrico. Para dichas determinaciones, se utilizó el analizador Cobas C501® (Roche Diagnostics) en la medición en plasma seminal y suero de los pacientes en estudio. Para la medición de la concentración de Tf, en ambos fluidos se utilizó la técnica de inmunodifusión radial [IDR]. En suero se cuantificó con la placa de IDR comercial DIFFU-PLATE® (Biocientífica SA).

## Técnica de IDR para bajas concentraciones

Dado que la concentración de Tf en PS es 50 veces menor que en suero, las placas comerciales de IDR no tienen la sensibilidad suficiente; por ello, para medir la transferrina seminal, se desarrolló en nuestro laboratorio una placa de IDR adaptada a bajas concentraciones.

**Tabla I.** Valores poblacionales de proteínas totales, ferritina, hierro y transferrina en plasma seminal (n = 96).

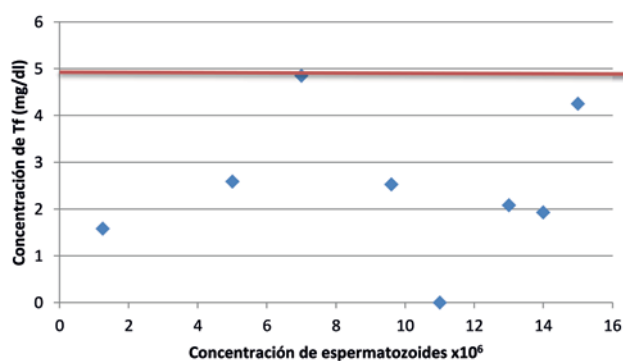
Metabolitos	V. Mín	V. Máx	M ± DE	Mediana	CV %
Pt (g/dL)	0,48	3,69	2,12 ± 0,75	2,17	35,70
FN (ng/dL)	20,00	457,60	249,30 ± 95,86	270,10	38,50
Fe (µg/dL)	12,00	64,00	29,32 ± 11,81	29,00	40,30
Tf (mg/dL)	1,80	16,33	5,19 ± 3,72	4,25	69,70

► Pt, proteínas totales; FN, ferritina; Fe, hierro; Tf, transferrina; V. Mín, valor mínimo; V. Máx, valor máximo; DE, desvío estándar; M ± DE, media ± desvío estándar; CV, coeficiente de variación.

Para la construcción de la placa de IDR, se utilizó agarosa (Fisher *Scientific*) al 1,5 P/V en *buffer* Veronal Sódico-Veronal (0,02 M con pH 8,6 y 0,005 M de cloruro de sodio) y se añadió anticuerpo comercial específico para Tf sérica (policlonal generado en conejo, Código: OSAX, *Dade Behring Inc. Newark, U.S.A*) para alcanzar una concentración final de  $3,80 \pm 1,30$  mg/dL [media ± DE].

#### Prueba de test espermático modificado (MOST)

Los espermatozoides son particularmente susceptibles al cambio oxidativo debido al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados en su membrana plasmática y al limitado sistema antioxidante interno. Para realizar esta prueba se separan los espermatozoides móviles mediante la técnica de *swim-up*.<sup>13</sup> El Test de MOST evalúa la pérdida de movilidad de los espermatozoides luego de ser incubados por 4 h en baño de agua a 40 °C. El objetivo del MOST es el de producir una peroxidación lipídica forzada en los espermatozoides.<sup>14</sup> El valor de MOST se calcula dividiendo la movilidad traslativa final por la movilidad traslativa inicial post incubación de 4h a 40°C de la muestra capacitada por *swim up* / muestra capacitada pre incubación, utilizando un valor de corte de 0,39 para separar muestras con MOST normal (mayor a 0,39) y MOST anormal (menor o igual que 0,39).

**Figura 2.** Concentración relativa de espermatozoides/ concentración de TfT.

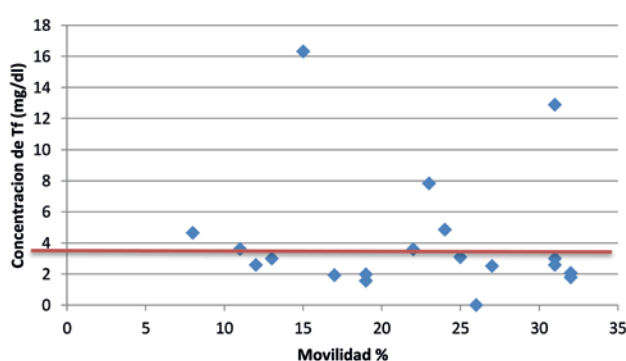
#### Determinación de ERO

##### Producción de óxido nítrico (NOx)

La medición de NOx se realizó mediante la determinación de la cantidad total de nitritos (NO<sup>2-</sup>), que son los productos estables del metabolismo de NO en el líquido seminal. Se utilizó el reactivo de Griess (solución acuosa de sulfanilamida al 1% y naftilenetendiamida al 0,1%) en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, el cual forma un cromóforo estable con NO<sup>2-</sup>, y que absorbe a 546 nm.<sup>15</sup> Las medidas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro Jenway 6705, *Dunmow Essex*.

#### Peroxidación lipídica en PS, malonildialdeído (MDA)

El MDA es el producto final de la peroxidación de los ácidos grasos y un marcador de la actividad de los radicales libres. Para la medición de peroxidación lipídica en PS se utilizó el método del ácido tiobarbitúrico (TBA).<sup>16</sup> Aunque el TBA no solo se limita a la medición del MDA, es el método más empleado para determinar la oxidación lipídica y, por lo tanto, el estrés oxidativo. A 100 µL de PS, se le añadieron 200 µL de ácidotricloroacético al 25% y se incubó a 4°C durante 15 minutos; posteriormente, se centrifugaron a 4°C 5000 g durante 3 minutos, y el sobrenadante (100 µL) fue neutralizado con NaOH 4M. A 1 mL de la solución anterior se le adicionó 1 mL de TBA (*Merck Millipore*) al 0,7% y se incubó a 90°C durante 60 minutos. La reacción de color se midió espectrofotométricamente a 532 nm en la fase orgánica (1-butanol). Se utilizó 1-1-3-3 tetrametoxipropano (99% Sigma-

**Figura 3.** Movilidad progresiva/concentración de TfT.

**Tabla II.** Óxido Nítrico y concentración de Tf en plasma seminal.

Muestras de PS	Absorbancia (546nm)	Concentración de cromóforo* (ug/mL)	Tf seminal (mg/dL)
72	0,866	0,07544	7,31
74	0,699	0,06089	12,09
76	1,066	0,09286	3,59
77	0,543	0,04730	6,78
82	0,674	0,05871	16,33
83	1,046	0,09111	3,59
38	0,813	0,07082	10,58
44	0,651	0,05671	9,60
53	0,823	0,07169	4,85
56	0,769	0,06699	1,93
63	0,680	0,05923	8,67
Testigo**	0,574	0,05000	

► \*Solución acuosa de sulfanilamida y naftilendiamida en H3PO4 con los NOx de la muestra; \*\*solución acuosa de nitrito de sodio.

Aldrich] como estándar. La concentración de MDA [medida como sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico, TBARs] se calculó en  $\mu\text{mol/L}$ .

#### Análisis estadístico

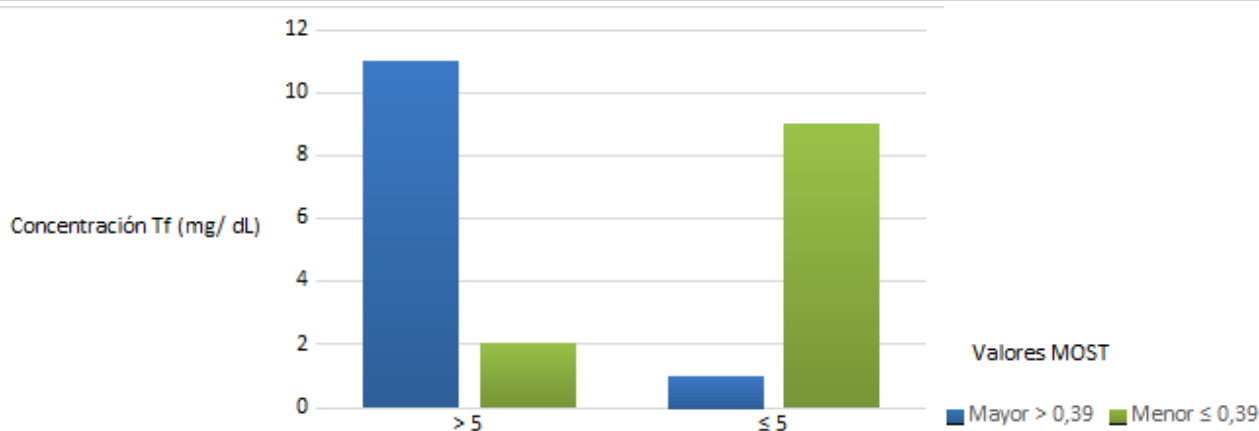
Para verificar una posible correlación entre las variables, se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman debido a la falta de normalidad en la distribución de las variables involucradas. Para la comparación de las concentraciones de Tf, se realizó la categorización en grupos. Se utilizaron los programas *R Commander*® y *Excel (Microsoft)* para la base de datos. Se consideró una significación estadística cuando  $p < 0,05$ .

#### Resultados

Se analizaron 115 muestras de semen y suero de pacientes y voluntarios sanos (edad:  $36,55 \pm 10,44$ ). En la tabla I se observan los valores obtenidos: media (M), desvío estándar (DS) y coeficiente de variación (CV), para cada uno de los parámetros en PS.

Se estudió la concentración relativa de células espermáticas respecto de la concentración de Tf medida para dichas muestras. Se consideró el LRI (límite de referencia inferior) de la concentración de espermatozoides:  $15 \times 10^6$  espermatozoides por ml [13].

Este estudio resultó altamente significativo, ya que ninguna

**Figura 4.** Relación entre valores de MOST (Estrés Espermático) y valor medio de Tf seminal.

► Test de MOST en muestras seminales (n=23) con valores de Transferrina en PS mayores a la media [5 mg/dL] y valores menores o iguales a la media. Azul, Test de MOST normal (> 0,39). Verde, Test de MOST alterado (≤ 0,39).

de las muestras seleccionadas, las cuales no cumplían con el LRI, llega a la media poblacional de Tf (Figura 2). La concentración de Tf en PS tiene una relación directa con la concentración espermática ( $r = 0,3872$ ,  $p\text{-value} = 0,0070$ ,  $p < 0,01$ ,  $n = 8$ ).

Se seleccionaron las muestras con espermatozoides móviles progresivos, menores que el LRI (32 %), relacionándolos con la concentración de Tf. Al comparar el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos respecto de la concentración de Tf en plasma seminal, pudimos observar que el 85 % no alcanzaba la media poblacional. (Figura 3). El porcentaje de espermatozoides móviles progresivos también presenta una relación directa con la concentración de Tf ( $r = 0,3721$ ;  $p\text{-value} = 0,0139$ ,  $p < 0,05$ ,  $n = 19$ ).

En la tabla II, se observan los valores de absorbancia, concentración del cromóforo de  $\text{NO}_2^-$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) y Tf seminal ( $\text{mg/dL}$ ) para 11 muestras, usando como testigo una solución de 0,05 ppm de  $\text{NO}^-$  [ $\text{NO}_2\text{Na}$  (Merk-Millipore) Cat 7632 en agua bidestilada]. El coeficiente de correlación entre la concentración de nitrito y la Tf seminal evidenció una relación inversa, de mediana intensidad, con un valor de  $-0,53$ .

En la figura 4, se observa que, para valores de MOST anormales (menor o igual que 0,39), los valores de Tf seminal se encuentran, en su mayoría, por debajo del valor medio hallado en nuestra población (5  $\text{mg/dL}$ ). La concentración espermática no se relaciona con los valores de MOST ( $r = 0,12$ ;  $n = 23$ ).

En la tabla III, se observan las absorbancias correspondientes a las lecturas del MDA por el método de T-Bars comparadas con la concentración de Tf seminal de las muestras estudiadas ( $n = 14$ ).

El coeficiente de correlación entre la peroxidación lipídica y la Tff evidenció una leve relación inversa, con un valor de  $-0,39$ .

## Discusión

En la bibliografía consultada, se observaron valores muy dispares de los metabolitos estudiados, Fe, Tf, Fn y Pt, en plasma seminal, y por ello es necesario contar con valores referenciales propios, calculados en nuestra población y con nuestra metodología para avanzar en el conocimiento de la homeostasis del hierro en testículos.

En nuestro estudio, los marcadores bioquímicos analizados fueron significativamente diferentes en plasma seminal y suero y no se encontró relación entre los mismos. Estas diferencias pueden estar asociadas a la secreción selectiva de testículo, epidídimo y glándulas accesorias masculinas y al ambiente específico requerido para el metabolismo y mantenimiento de la función espermática.

En nuestros estudios, observamos que el 100 % de los pacientes con oligozoospermia ( $\text{LRI} < 15 \times 10^6 \text{ Z/mL}$ ) presentaban una concentración de Tff inferior a la media poblacional.

La correlación positiva entre la Tf en PS con el recuento y la concentración espermática confirma los reportes previos que asocian la disminución en su concentración en PS con la disminución de la expresión del RTf en pacientes con azoospermia no obstructiva<sup>17,18</sup> y en pacientes con oligozoospermia.<sup>1</sup>

Con respecto a la movilidad, encontramos una correlación

positiva entre la concentración de Tf en PS y el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos: más del 80% de las muestras con baja movilidad presentaban una concentración de Tf inferior a la media poblacional. Este resultado concuerda con la investigación de Yoshida<sup>19</sup>, que describe niveles bajos de Tf en pacientes con oligoastenoospermia.

Estos resultados sugieren que la disminución de la concentración de Tf en PS podría estar asociada a una espermatogénesis anormal que conduce a una disminución en el número y movilidad de los espermatozoides.

Las células de Sertoli actúan como sustento físico y metabólico del proceso de diferenciación de los espermatozoides. Las alteraciones en su función podrían estar relacionadas con una espermatogénesis anormal y mal funcionamiento testicular, lo que sugiere que la Tff podría usarse como un "índice clínico confiable", en sujetos clínicamente definidos, del estado funcional de las CS.<sup>20</sup>

Hasta el momento, sólo la medida de la proteína ligadora de andrógenos (ABP), otra glicoproteína secretada por las células de Sertoli, puede ser considerada como marcador específico funcional de estas células.<sup>21</sup> Sin embargo, su concentración en semen es muy baja y su determinación requiere métodos y equipamiento de alta complejidad. Por esta razón, sería importante que se pudiera utilizar la medición de Tf como posible marcador clínico de la función de las células de Sertoli en el hombre.

El EO interfiere con la capacitación espermática y puede causar daños tanto en la membrana del espermatozoide como en el ADN, afectando su potencial para fertilizar el óvulo y generar un embrión sano. La medición precisa tanto de ERO como de la capacidad antioxidante total es importante para determinar si el estrés oxidativo es la causa subyacente de la infertilidad masculina.

En nuestro trabajo, encontramos relación inversa entre los niveles de ERO y la concentración de Tff en plasma seminal. Los niveles de ERO fueron estudiados por dos métodos diferentes: T-BARS y nitritos.

Para medir el efecto de las ERO en la membrana, se utilizó el método de MOST, el cual mide peroxidación lipídica forzada de la membrana espermática. Observamos que todas las muestras con alta peroxidación (valores de MOST mayores que 39), independientemente de la concentración de espermatozoides en semen, tenían baja concentración de Tf.

Otros investigadores<sup>22,23</sup> han estudiado la función de las proteínas transportadoras de metales como antioxidantes. Se postula la función de la Tf como proteína antioxidante que contribuye a la integridad y función de la célula espermática.

Las técnicas disponibles actualmente en un laboratorio de andrología para el diagnóstico de la infertilidad masculina son numerosas, desde el estudio descriptivo tradicional del semen a los bioensayos funcionales y los criterios bioquímicos.<sup>24,13</sup>

La identificación de nuevas vías y mecanismos moleculares en la infertilidad masculina podría contribuir significativamente al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas en este campo.<sup>25</sup>

Con n base en nuestros resultados, proponemos incorporar la TfT como un posible biomarcador de la función reproductiva masculina y realizar una evaluación sistemática de las ERO, tanto en PS como en la membrana del espermatozoide, que integre el protocolo de estudio de la pareja infértil, especialmente en aquellas parejas con infertilidad idiopática.

Es necesario estudiar un mayor número de pacientes y discriminarlos por patologías para poder concluir cuál técnica de medición de ERO es la más adecuada.

### Agradecimientos

Agradecemos al médico Urólogo Esteban Streiger, por su colaboración en la recopilación de datos, a la Lic. Alejandra Olmos por su asistencia en el procesamiento estadístico, al Químico Ricardo Botta por su asesoramiento en la preparación de reactivos y a los pacientes que participaron en el proyecto.

### Fuente de financiamiento

Proyecto de Investigación y Desarrollo, UNR. "Caracterización de Metaloproteínas Transportadoras de Hierro en Plasma Seminal y su Posible Función Como Moléculas Reguladoras del Metabolismo Espermático" [BI0595] [Res. CS N°650/2017].

### Referencias bibliográficas

- Sharma R, Agarwal A, Mohanty G, Jesudasan R, Gopalan B, et al. Functional proteomic analysis of seminal plasma proteins in men with various semen parameters. *Reprod Biol Endocrinol*. 2013; 11:11:38.
- Brufman AS. Caracterización de los antígenos ABH en la membrana espermática humana. pp 27. Bahnhofstrasse 28, 66111 Saarbrücken (Alemania): Ed.Publicia; 2016.
- Kumar N, Singh AK. Reactive oxygen species in seminal plasma as a cause of male infertility. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018; 47(10):565-57.
- Rodríguez-Martínez H, Kvist U, Ernerudh J, Sanz L, Calvete JJ. Seminal plasma proteins: what role do they play? *Am J Reprod Immunol*. 2011; 66(Suppl 1):11-22.
- Samanta L, Parida R, Dias TR, Agarwal A. The enigmatic seminal plasma: a proteomics insight from ejaculation to fertilization. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018; 16(1):41.
- Zylbersztejn DS, Andreoni C, Del Giudice PT, Spaine DM, Borsari L, Souza, GHMF, et al. Proteomic analysis of seminal plasma in adolescents with and without varicocele. *Fertil Steril*. 2013; 99(1):92-98.
- Martins AD, Panner Selvam MK, Agarwal A, Alves MG, Baskaran S. Alterations in seminal plasma proteomic profile in men with primary and secondary infertility. *Sci Rep*. 2020; 10(1):7539.
- Sylvester SR, Griswold MD. The testicular iron shuttle: a "nurse" function of the Sertoli cells. *J Androl*. 1994; 15(5):381-5.
- Fujisawa M. Regulation of testicular function by cell-to-cell interaction. *Reprod Med Biol*. 2006; 5(1):9-17.
- Leichtmann-Bardoogo Y, Cohen LA, Weiss A, Marohn B, Schubert S, Meinhart A, et al. Compartmentalization and regulation of iron metabolism proteins protect male germ cells from iron overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012; 302(12):e1519-30.
- Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, Henkel R, Shah R, Homa ST et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*. 2019; 37(3):296-312.
- Gupta S, Finelli R, Agarwal A, Henkel R. Total antioxidant capacity-Relevance, methods and clinical implications. *Andrologia*. 2021; 53(2):e13624.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed, Geneva, Switzerland. WHO Press. 2010.
- Calamera J, Doncel G, Olmedo S, Kolm P, Acosta A. Modified sperm stress test: a simple assay that predicts sperm-related abnormal in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1998; 13(9):2484-8.
- Green L, Wagner D, Glogowski J, Skipper P, Wishnok J, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 1982; 126(1):131-8.
- Wade CR, van Rij AM. Plasma thiobarbituric acid reactivity: reaction conditions and the role of iron, antioxidants and lipid peroxy radicals on the quantitation of plasma lipid peroxides. *Life Sci*. 1988; 43(13):1085-93.
- Dadoun C, Guiton P, Dubuc PD, Bastit P, Sauger F, Dadoun D, Bisson JP, Maitrot B. Biochemical exploration of azoospermia: interest of the seminal transferrin assay. *Hum Reprod*. 1989; 4(3):265-9.
- Zalata, A., Hafez, T., Schoonjans, F., Comhaire, F. The possible meaning of transferrin and its soluble receptors in seminal plasma as markers of the seminiferous epithelium. *Human Reproduction*. 1996; 11(4):761-764.
- Yoshida KI, Nakame Y, Uchijima Y. Seminal plasma transferrin concentration in normozoospermic fertile men and oligozoospermic men associated with varicocele. *Int J Fertil*. 1988; 33(6):432-6.
- Barthelemy C, Khalfoun B, Guillaumin JM, Lecomte P, Bardos P. Seminal fluid transferrin as an index of gonadal function in men. *J Reprod Fertil*. 1988; 82(1):113-8.
- Schlegel P, Hardy M y Goldstein M. *Fisiología Reproductiva Masculina*. En Campbell-Walsh- Urología. 9º. Ed. Buenos Aires (Argentina). Ed. Médica Panamericana. 2008. Tomo 1. Sección IV. Cap.18. p.589.
- Levy MA, Tsai YH, Reaume A, Bray TM. Cellular response of antioxidant metalloproteins in Cu/Zn SOD transgenic mice exposed to hyperoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001; 281(1):172-182.
- Agarwal A, Durairajanayagam D, Halabi J, Peng J, Vazquez-Levin M. Proteomics, oxidative stress and male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2014; 29(1):32-58.
- Krawetz SA, De Rooij DG, Hedger MP. Molecular aspects of male fertility. *International Workshop on Molecular Andrology*. EMBO Rep. 2009; 10(10):1087-92.
- Milardi D, Grande G, Vincenzoni F, Castagnola M, Marana R. Proteomics of human seminal plasma: identification of biomarker candidates for fertility and infertility and the evolution of technology. *Mol Reprod Dev*. 2013; 80(5):350-7.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Biomarcadores en el síndrome metabólico y su correlación con la osteocalcina sérica

## *Biomarkers in Metabolic Syndrome and their correlation with serum osteocalcin*

Benhaim, Marcela Estela<sup>\*1</sup>; López, Susana Verónica<sup>1,3</sup>; Pengue, Claudia<sup>1,2,3</sup>; Pugliese, Osvaldo Alberto<sup>2</sup>; Canella, Viviana Guadalupe<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón. Morón, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Servicio de laboratorio, Hospital Teodoro Álvarez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Servicio de laboratorio, Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón. San Martín, Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Benhaim, Marcela Estela. Universidad de Morón, Helguera 4445 [C.P. 1419], Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; marceladec@hotmail.com. Fuentes de financiamiento: Fundación Universidad de Morón

**Resumen** Introducción: La osteocalcina aumenta la secreción de insulina, la insulino-sensibilidad, por intermedio de la secreción de adiponectina y el consumo energético; disminuye la glucosa plasmática y la masa corporal y estimula las células beta pancreáticas. Recientes estudios parecen demostrar una regulación mutua entre el metabolismo energético y el hueso a través de la osteocalcina. Objetivos: Evaluar si existe correlación entre los niveles séricos de osteocalcina con marcadores de insulinoresistencia de inflamación y otros marcadores metabólicos en una población adulta con síndrome metabólico (SM). Materiales y métodos: Se incluyeron 95 pacientes: 58 mujeres y 37 hombres con una media de edad de  $51,5 \pm 8,5$  y  $53,6 \pm 9,3$  años, respectivamente, con diagnósticos de SM, según criterios del *National Cholesterol Education Program*. Se practicó a cada paciente una extracción de sangre venosa con 12 horas de ayuno. Se dosaron los siguientes analitos: osteocalcina, glucemia basal, insulina, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos TG, hemoglobina glicosilada, proteína C reactiva, apoproteína A1, apoproteína B, leptina e interleuquina 6. Resultados: los valores de osteocalcina mostraron correlación negativa con: glucemia basal ( $r = -0,29, p \leq 0,005$ ), TG ( $r = -0,24, p \leq 0,005$ ), HbA1c ( $r = -0,23, p \leq 0,005$ ) e Índice TG/HDLc ( $r = -0,23, p \leq 0,005$ ) en toda la población. Conclusiones: Los niveles bajos de osteocalcina se correspondieron con la elevación de un indicador de insulinoresistencia y con parámetros de mal control metabólico; mostraron también una asociación inversa de los valores de osteocalcina sérica con el riesgo de aparición de eventos metabólicos adversos.

**Palabras clave:** osteocalcina, síndrome metabólico, insulinoresistencia, inflamación.

**Abstract** Introduction: Osteocalcin increases insulin secretion, insulin sensitivity through adiponectin secretion, and energy consumption, and decreases plasma glucose and body mass and stimulates pancreatic beta cells. In addition, it has been recently shown that osteocalcin is responsible for a mutual regulation between energetic metabolism and the bone. Objectives: To evaluate whether there is a correlation between serum levels of osteocalcin, insulin-resistance markers, inflammation biomarkers and other metabolic markers in an adult population diagnosed with Metabolic Syndrome [MS]. Materials and methods: A total of 95 patients were included: 58 women and 37 men with a mean age of  $51.5 \pm 8.5$  and  $53.6 \pm 9.3$  years respectively, all with MS diagnosis according to the criteria of the National Cholesterol Education Program. Venous blood was drawn from each patient after 12 hours of fasting. The following analytes were dosed: osteocalcin, basal glycemia, insulin, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides (TG), glycosylated hemoglobin, C-reactive protein, Apoprotein A1, Apoprotein B, leptin and interleukin 6. Results: Osteocalcin values showed a negative correlation with: basal glycemia ( $r = -0.29, p \leq 0.005$ ), TG ( $r = -0.24, p \leq 0.005$ ), HbA1c ( $r = -0.23, p \leq 0.005$ ) and the TG/HDL cholesterol index ( $r = -0.23, p \leq 0.005$ ). Conclusions: Low osteocalcin levels were related to the increase in an insulin resistance indicator and poor metabolic control parameters and serum osteocalcin values were inversely associated with the risk of the appearance of adverse metabolic events.

**Key words:** osteocalcin, metabolic syndrome, insulin resistance, inflammation.

## Introducción

La osteocalcina es una proteína oseo específica que posee numerosos rasgos de hormona. Tiene un peso molecular de 5,7 kDa., es producto de las células de estirpe osteoblástica<sup>1</sup> y el mayor componente no mineral de la matriz extracelular. Es la proteína no colágena más abundante, aunque no está involucrada en la formación ósea, a pesar de ser un marcador bioquímico de ella.<sup>2,3</sup>

Es conocido que la osteocalcina aumenta la secreción de insulina y la insulinosensibilidad en los tejidos por intermedio de la secreción de adiponectina; disminuye la glucosa plasmática; estimula la función y proliferación de las células beta pancreáticas, la disminución de la masa grasa y el aumento del consumo de energía.<sup>1,4</sup>

El tejido adiposo blanco es secretor de adipocinas, entre las cuales se encuentran el factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF $\alpha$ ) y la adiponectina, leptina, interleucina 6 (IL-6), entre otras.<sup>5</sup>

La leptina también regula la remodelación ósea actuando en forma directa sobre los osteoblastos.<sup>4,7</sup> Estos mecanismos están implicados en una regulación común del apetito y la masa ósea y la leptina es la única hormona que influye de manera significativa en esta y en otras funciones. Todo lo descripto indicaría la presencia de una regulación mutua entre el metabolismo energético y el hueso, cuyo mediador es la osteocalcina. Se ha hallado en pacientes adultos una correlación entre la concentración sérica de osteocalcina y distintos marcadores de síndrome metabólico que permite evidenciar la existencia de una relación de tipo inverso entre la osteocalcina, los niveles circulantes de glucosa y la masa grasa.<sup>8,9</sup>

Ya se ha establecido que los pacientes diabéticos tienen menores niveles de osteocalcina respecto de los no diabéticos<sup>10</sup> y se verificó la relación inversa entre osteocalcina y glucemia basal, insulina, hemoglobina glicosilada (HbA1c), índice HOMA, PCR ultrasensible, IL-6, y otros parámetros.<sup>9</sup> Además, las concentraciones en plasma de IL-6 y adiponectina se emplean como indicadores de la predisposición a presentar diabetes mellitus tipo 2.<sup>5,11</sup>

Los niveles circulantes de osteocalcina se correlacionan inversamente con parámetros de adiposidad como el índice de

masa corporal (IMC) o la masa grasa, con anomalías en los valores de lípidos circulantes y de sus índices: índice de riesgo (IR), índice Tg/HDL, entre otros.<sup>12,13</sup> Los modelos en ratones mostraron la osteocalcina como una hormona reguladora positiva de la biosíntesis de insulina y de la insulinosensibilidad; los niveles disminuidos de osteocalcina se asociaron a diabetes, intolerancia a la glucosa e insulinoresistencia.<sup>4,14</sup>

Alteraciones en el metabolismo de la glucosa podrían estar implicadas en la disminución de la masa ósea y ser un factor de riesgo para la aparición de fracturas. La adiponectina, la leptina, la osteocalcina y la insulina estarían involucradas en la integración de varios tejidos, relacionando las funciones del tejido graso, páncreas endócrino y hueso, regulando el metabolismo de la glucosa, la formación - resorción ósea, el metabolismo de los lípidos y el energético. Además, la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad son patologías en las que la participación de las adipocinas como la IL-6, TNF $\alpha$ , adiponectina y leptina contribuyen al deterioro del endotelio.

La IL-6 es una citoquina proinflamatoria producida por varios tipos celulares tales como fibroblastos, células endoteliales, músculo esquelético y tejido adiposo blanco visceral. Induce a un aumento de la trigliceridemia y de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), a la resistencia a la insulina y a una disminución de la actividad de la lipoproteinlipasa. Las catecolaminas inducen la producción de I16 y los glucocorticoides la inhiben.<sup>15</sup> Su función principal se da, en el sistema inmune, en el control de la inflamación. Realiza importantes funciones en la homeostasis del sistema nervioso central (SNC), en la respuesta al ejercicio físico y en el metabolismo (particularmente, en funciones relacionadas con la insulina). Diversos estudios han demostrado que la IL-6 podría tener un papel en el control del peso corporal, tanto a nivel de SNC como periférico.<sup>19</sup>

El síndrome metabólico (SM) o síndrome de insulinoresistencia es un conjunto de factores fisiológicos, clínico-bioquímicos y metabólicos que conllevan un aumento del riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular o diabetes mellitus tipo II con el consiguiente aumento de riesgo de muerte por dichas patologías. Estos factores incluyen: resistencia a la insulina, exceso de grasa abdominal, dislipidemia aterogénica, disfunción endotelial, hipertensión arterial y estado de hipercoagulabilidad, en-

**Tabla I.** Síndrome metabólico. Criterios diagnósticos, según NCEP/ATP III (*National Cholesterol Education Program*).

	NCEP/ATP III
Triglicéridos $\geq$ 150 mg/dl	✓
HDL-CL < 40 mg/dl en hombres y 50 mg/dl en mujeres	✓
Presión arterial > 135/85 mmHg	✓
Glucemia en ayunas > 100 mg/dl	✓
Obesidad central	✓
Factores de riesgo y diagnóstico	3 criterios

► Fuente: NCEP-ATP III JAMA 2001;285:2486-97

tre otros. El Informe del *Adult Treatment Program III* (ATP III) del NCEP (*National Cholesterol Education Program*) presentado en 2001 definió la presencia de SM, si se cumplen tres o más de los siguientes criterios (Tabla I):

1. Obesidad abdominal, con circunferencia de cintura > 102 cm. en hombres y > 88 cm. en mujeres.
2. Triglicéridos:  $\geq 150$  mg/dl.
3. HDLc: <40 mg/dl en hombres; < 50 mg/dl en mujeres.
4. Presión arterial:  $\geq 135 / \geq 85$  mmHg.
5. Glucosa en ayunas:  $\geq 110$  mg/dl.

El objetivo de este trabajo fue evaluar si existe correlación entre los niveles séricos de osteocalcina (marcadores de insulinorresistencia), los biomarcadores de inflamación y otros marcadores metabólicos en una población adulta con diagnóstico de síndrome metabólico.

### Materiales y métodos

Se incluyeron pacientes que concurren al Servicio de Laboratorio del Hospital Interzonal General de Agudos Eva Perón y del Hospital Teodoro Álvarez, los cuales reunían 3 o más de los 5 criterios diagnósticos de SM, según NCEP/ATP III (*National Cholesterol Education Program*). Se excluyó a aquellos que estaban bajo tratamiento con insulina, terapia hormonal de reemplazo o corticoides.

Se le practicó a cada paciente una extracción de sangre venosa, luego de un ayuno de 12 horas. Se dosaron las si-

guientes determinaciones: osteocalcina (N-mid. osteocalcina. ECLIA Cobas Roche VR: H 14 - 46 ng/ml, M 11 - 46 ng/ml), glucemia basal (glu, Hexoquinasa colorimétrico. Cobas Roche VR 70 - 110 mg/dl), insulina (Insulina ECLIA Cobas Roche VR: 2,6 - 13  $\mu$ UI/ml), colesterol total (CT Cobas Roche VR: menor de 200 mg/dl), HDL colesterol (HDLc enzimático directo Cobas Roche VR: H>40mg/dl M>50 mg/dl.), LDL colesterol (LDLc método homogéneo enzimático colorimétrico [VR: riesgo bajo <129 mg/dl, riesgo moderado: 130 - 189 mg/dl; riesgo muy elevado: >190 mg/dl]. triglicéridos [TG Enzimático colorimétrico Cobas Roche VR: hasta 175 mg/dl), hemoglobina glicosilada [HbA1c% inmunturbidimetría Wiener Lab VR: hasta 5,9 %], proteína C reactiva ultrasensible [PCRus] [inmunturbidimetría Cobas Roche VR: hasta 0,50 mg/dl), apoproteína A1 [APoA1] [inmunturbidimetría Cobas Roche. VR: >135 mg/dl), apoproteína B [ApoB] [inmunturbidimetría Cobas Roche VR: H 66 - 133 mg/dl, M 60 - 117 mg/dl), leptina [enzimoinmunoanálisis Drg Leptin VR: BMI DE 25 A 29: mujeres: 4,1 a 14,5 ng/ml, hombres 0,5 a 14,6 ng/ml; BMI > 30: mujeres de 5,5 a 40,4 ng/ml, hombres 2,5 a 42,1 ng/ml), interleucina 6 [quimioluminiscencia Immulite 2000 DPC Siemens VR: H 5,9 pg/ml). También se calcularon los índices de insulinorresistencia: HOMA [Insulina  $\mu$ U/ml X Glucemia mg/dl] / 405] VR: hasta 2,6 [16] TG/HDLc VR: H hasta 3,5, M hasta 2,5 [17] y el índice ApoB/ApoA1 VR: H hasta 0,90, M hasta 0,80.<sup>1,8</sup>

**Tabla II.** Características de la población.

	Mujeres 61 % n = 58		Hombres 39 % n = 37	
	$\bar{x}$	$\pm$ DS	$\bar{x}$	$\pm$ DS
Edad (años)	51,5	8,5	53,6	9,3
IMC	34,3	8,3	30,6	5,2
Glucemia (mg/dl)	163,6	69,3	164,5	66,5
HOMA	11,9	16,5	10,1	9,9
TG (mg/dl)	229	186	232	163
HDL (mg/dl)	44,8	12,7	42,0	13,3
HbA1C (%)	7,63	2,24	7,80	2,10
Osteocalcina (ng/ml)	17,1	7,9	13,4	4,20
Insulinemia ( $\mu$ UI/ml)	29,7	34,4	25,2	24,2
TG/HDL	5,9	6,4	6,4	5,2
PCRus (mg/dl)	1,16	2,53	0,43	0,49
APoA1 (mg/dl)	191	37	175	31
ApoB (mg/dl)	125	30	137	34
APO B/APO A1	0,67	0,22	0,74	0,19
LEPTINA (ng/ml)	28,3	19,5	8,0	6,5
IL 6 (pg/ml)	11,64	10,42	10,57	6,08

**Tabla III.** Correlación entre diferentes parámetros metabólicos y la osteocalcina.

Parámetro	r	P
Glucemia (mg/dl)	-0,29	0,004*
HOMA	0,06	0,582
TG (mg/dl)	-0,24	0,021*
HDLc (mg/dl)	0,12	0,269
Leptina (ng/ml)	0,08	0,613
HbA1C (%)	-0,23	0,037*
Insulinemia (μUI/ml)	0,003	0,973
TG/HDLc	-0,23	0,023*
ApoB/Apo A1	-0,22	0,234
APoA1 (mg/dl)	0,01	0,962
PCRus (mg/dl)	-0,14	0,196
IL 6 (pg/ml)	-0,34	0,06
ApoB (mg/dl)	-0,25	0,192

► R, coeficiente de correlación de Pearson; p, nivel de significancia para un  $\alpha = 0,05$ ; los parámetros con \* correlacionan con osteocalcina.

Para el análisis estadístico, se calcularon medias, desvío estándar y coeficiente de correlación de Pearson para variables continuas, utilizando el programa *GraphPad Prism* 5,01 versión para *Windows*, *GraphPad Software*. S. Diego, California. USA. (Tabla II).

Los pacientes incluidos en el estudio fueron invitados a participar y firmaron un consentimiento informado. Asimismo, tuvieron acceso a todos los resultados obtenidos.

## Resultados

Se incluyeron 95 pacientes, 58 mujeres (61 %) y 37 hombres (39 %) con una media de edad de  $51,5 \pm 8,5$  y  $53,6 \pm 9,3$  años, respectivamente. Los IMC medios calculados para la población en estudio fueron de  $34,3 \pm 8,3$  en mujeres y  $30,6 \pm 5,2$  en hombres. Los resultados obtenidos en los distintos parámetros sanguíneos para mujeres y hombres fueron, respectivamente: glucemia (mg/dl)  $163,6 \pm 69,3$  y  $164,5 \pm 66,5$ ; HOMA  $11,9 \pm 16,5$  y  $10,1 \pm 9,9$ ; TG (mg/dl)  $229 \pm 186$  y  $232 \pm 163$ ; HDL (mg/dl)  $44,8 \pm 12,7$  y  $42,0 \pm 13,3$ ; HbA1C (%)  $7,63 \pm 2,24$  y  $7,80 \pm 2,10$ ; osteocalcina (ng/ml)  $17,1 \pm 7,9$  y  $13,4 \pm 4,20$ ; insulinemia (μUI/ml)  $29,7 \pm 34,4$  y  $25,2 \pm 24,2$ ; TG/HDLc  $5,9 \pm 6,4$  y  $6,4 \pm 5,2$ ; PCRus (mg/dl)  $1,16 \pm 2,53$  y  $0,43 \pm 0,49$  APO A1 (mg/dl)  $191 \pm 37$  y  $175 \pm 31$ ; APO B (mg/dl)  $125 \pm 30$  y  $137 \pm 34$ ; APO B/APO A1  $0,67 \pm 0,22$  y  $0,74 \pm 0,19$ ; leptina (ng/ml)  $28,3 \pm 19,5$  y  $8,0 \pm 6,5$ ; IL-6 (pg/ml)  $11,64 \pm 10,42$  y  $10,57 \pm 6,08$  (Tabla II).

Los valores de osteocalcina sérica mostraron correlación negativa con los de glucemia basal ( $r = -0,29$ ,  $p \leq 0,005$ ), TG ( $r = -0,24$ ,  $p \leq 0,005$ ), HbA1c ( $r = -0,23$ ,  $p \leq 0,005$ ) e índice

TG/HDLc ( $r = -0,23$ ,  $p \leq 0,005$ ), en toda la población estudiada (Tabla III).

## Discusión

En la población estudiada, cuya edad promedio es de 52,5 años (rango 26 - 71), encontramos que los valores de osteocalcina se correlacionan negativamente con los de glucemia basal y triglicéridos, con el valor porcentual de la hemoglobina glicosilada HbA1c y con el índice triglicéridos/HDL colesterol. Fue llamativo encontrar que el 94 % de los pacientes con SM tuvieron valores de APO A mayores que el valor límite mínimo. Asimismo, el 39 % de los pacientes tenía valores normales/altos de HDL. Todos estos pacientes cumplían con los criterios de inclusión para SM, pero estos resultados nos llevan a hipotetizar que puede haber una subpoblación de pacientes con SM con valores de HDL protectores que les permitirían tener una evolución diferente en su patología a lo largo del tiempo.

Los niveles de apolipoproteína B (ApoB) constituyen un potente predictor de riesgo cardiovascular y, sin embargo, su estudio en pacientes con síndrome metabólico es escaso. Nosotros encontramos 59 % de los pacientes con APOB elevada (64 % mujeres y 50 % hombres), por lo que sería recomendable incluir este dosaje en los protocolos de estudio en SM.

La relación entre factores inflamatorios y enfermedad cardiovascular sugiere que la inflamación crónica subclínica juega un papel mayor en el desarrollo de la aterosclerosis. La concentración de PCRus es un factor de riesgo independiente, predictor de enfermedad coronaria significativamente asociada con masa grasa y con los distintos componentes del SM.<sup>20,21</sup> En adultos la PCRus elevada es específica del síndrome metabólico.<sup>22</sup> En este estudio, el 39,5 % de los pacientes presentó PCRus elevada y el 73 % tuvo valores de IL6 elevados, aunque no se correlacionaron con la concentración sérica de osteocalcina en ninguno de ambos casos. Se ha descrito que la IL6 participa activamente en el mecanismo de la resistencia a la insulina, ya que altera la señalización de ella en los hepatocitos por la inducción de la proteína SOCS-3 [*Supresor Citokine Signaling-3*], que inhibe la autofosforilación del receptor de la insulina.<sup>23</sup> Por otra parte, debido a la importante contribución en la producción de IL6 que hace el tejido adiposo visceral (entre un 15 a un 30 %), la obesidad abdominal es un factor de riesgo considerable para la aparición del síndrome metabólico.<sup>15</sup>

Se ha señalado una estrecha vinculación entre el proceso inflamatorio y el tejido adiposo a través de estructuras comunes que controlarían las funciones metabólicas e inmunológicas. El factor NF-KB y el sistema JAK/STAT regulan la expresión de citoquinas en humanos bajo el estímulo de nutrientes como los ácidos grasos y la glucosa y, posteriormente, por una retroalimentación de las adipocinas producidas por diversos tipos celulares que componen el tejido adiposo visceral.<sup>24</sup> Asimismo, las células precursoras de los adipocitos poseen una potente actividad fagocitaria y se

evidencia en ellas una importante plasticidad celular.<sup>25</sup> De esta manera, se ha sugerido a través de múltiples trabajos el papel fundamental que cumple el tejido óseo mediante una hormona, la osteocalcina cuya presencia regula la insulinoresistencia, la aparición de diabetes, la obesidad y todo el metabolismo energético. Así, el tejido graso, que es el órgano con función endócrina más extenso, sufre la mediación de otro órgano, en este caso, el esqueleto, y pone en evidencia las múltiples interrelaciones entre ambos, en las que se ven también involucrados numerosos mediadores y biomarcadores.

Se concluye que, en esta población específica, que incluye un rango etario más amplio que en trabajos anteriores hechos con adultos mayores, los niveles bajos de osteocalcina se correspondieron con la elevación de un indicador de insulinoresistencia y con parámetros de mal control metabólico. Existe, así, una asociación inversa de los valores de osteocalcina sérica con el riesgo de aparición de eventos metabólicos adversos.

### Referencias bibliográficas

- Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007; 130(3): 456-69.
- Murshed M, Schinke T, Mc Kee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol*. 2004; 165(5): 625-30.
- García-Martín A, Reyes-García R, Ávila-Rubio V, Muñoz-Torres M. Osteocalcina: nexo de unión entre homeostasis ósea y metabolismo energético. *Endocrinología y Nutrición* 2013; 60(5): 260-263.
- González-Rosas M, Pérez-Castrillón JL. Regulación endocrina del metabolismo energético a través del hueso. *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2014; 6 (2): 57-62.
- Almanza-Pérez JC, Blancas-Flores G, García-Macedo R, Alarcón-Aguilar FJ, Cruz M. Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *Gac Med Mex*. 2008; 144(6): 535-42.
- Rosado EL, Monteiro JB, Chaia V, do Lago MF. Effect of Leptin in the Treatment of Obesity and Influences of Diet in the Secretion and Action of Hormone. *Nutr Hosp*. 2006; 21(6): 686-93.
- Lee NK, Karsenty G. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19(5): 161-66
- Bador KM, Wee LD, Halim SA, Fadi MF, Santhiran P, Rosli NF et al. Serum osteocalcin in subjects with metabolic syndrome and central obesity. *Diabetes Metab Syndr*. 2016; 10(1 Suppl 1):S42-5.
- Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic Phenotype. *J Clin Endocr Metab*. 2009; 94(3): 827-32.
- Kunutsor SK, Apekey TA, Laukkanen JA. Association of serum total osteocalcin with type 2 diabetes and intermediate metabolic phenotypes: systematic review and meta-analysis of observational evidence. *Eur J Epidemiol*. 2015; 30(8): 599-614.
- Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia*. 2003; 46(12): 1594-1603.
- Bonanno M, Rey Saravia Seijo M, Zeni SN. Rol de la osteocalcina más allá del hueso. *Actual Osteol*. 2019; 15(2): 78-93.
- Ducy, P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. *Diabetologia*. 2011; 54(6): 1291-97.
- Bao YQ, Zhou M, Zhou J, Lu W, Gao YC, Pan XP, et al. Relationship between serum osteocalcin and glycaemic variability in Type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011; 38(1): 50-4.
- Sánchez JC, López DF, Pinzón OA, Sepúlveda JC. Adipocinas y síndrome metabólico: múltiples facetas de un proceso fisiopatológico complejo. *Rev Colomb Cardiol*. 2010; 17: 167-176.
- Buccini GS, Wolfthal DL. Valores de corte para índices de insulinoresistencia, insulinosensibilidad e insulino secreción derivados de la fórmula HOMA y del programa HOMA2. Interpretación de los datos. *Rev Argent Endocrinol Metab*. 2008; 45: 3-21.
- Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Leiva Sisniegues CE, Balbín E, Dulbecco CA, et al. Relation among the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol concentration ratio, insulin resistance, and associated cardio-metabolic risk factors in men and women. *Am J Cardiol*. 2012 ;109(12):1749-53.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004 ; 364(9438): 937-52.
- Ferrer Villahoz B. Influencia de la citoquina Interleuquina 6 (IL-6) adipocitaria y muscular en el control del metabolismo. [Doctorado]. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Biologia Celular, de Fisiologia i d' Immunologia; 2013.
- Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002; 347(20):1557-65.
- Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem*. 2004; 279(47): 487-90.
- Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107(3): 391-97.
- Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Mooney RA. Interleukin-6 induces cellular insulin resistance in hepatocytes. *Diabetes*. 2002; 51(12): 3391-99.
- Sánchez-Muñoz F, García-Macedo R, Alarcón-Aguilar F, Cruz M. Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gac Med Mex*. 2005; 141(6): 505-12.
- Charrière G, Cousin B, Arnaud E, et al. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem*. 2003; 278(11): 9850-55.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Comparación de dos métodos para la determinación de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* incorporando un sistema documental

*Comparison of two Methods for the Determination of anti-Trypanosoma cruzi antibodies incorporating a Documentary System*

Mamani, Jorgelina Inés<sup>1</sup>; Bilbao, lilia<sup>1</sup>; Collino, Cesar Juan Gerardo<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Laboratorio, Sanatorio Privado Aconcagua. Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET), Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup>Servicio de Laboratorio, Hospital G. Rawson, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba. Córdoba, Argentina.

\*Contacto: Mamani, Jorgelina Inés; Servicio de Laboratorio, Sanatorio Privado Aconcagua, Rondeau 455 [C.P. 5000]. Córdoba, Argentina; jorgelina1457@hotmail.com.

**Resumen** Introducción: la enfermedad de Chagas o *trypanosomiasis americana* es una enfermedad parasitaria sistémica causada por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Se presenta en tres etapas clínicas: aguda, indeterminada, y crónica. Objetivos: evaluar el desempeño de las pruebas serológicas de hemaglutinación indirecta para la detección de anticuerpo contra *T. cruzi* (HAI) y de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Conocer la frecuencia de resultados positivos, calcular la concordancia, la sensibilidad y especificidad del método HAI con respecto a la IFI en una población específica. Implementar un sistema documental (SD), en cuanto a estructura y formato, como parte de un sistema de gestión de calidad (SGC). Materiales y métodos: se realizó un estudio observacional, retrospectivo, empleando criterios de inclusión y exclusión. Se evaluaron resultados de pacientes que concurren al establecimiento del Sanatorio Aconcagua y, en particular, se evaluó la sensibilidad y especificidad de ambos métodos. Se desarrollaron documentos de soporte de laboratorio para estas metodologías como parte del SGC. Resultados: se realizaron 103 determinaciones: 12 concordaron en su positividad para las técnicas de HAI y de IFI, 88 dieron resultados negativos para ambas técnicas y 3 muestras resultaron discordantes para ambas pruebas. La sensibilidad para HAI fue de 92,3 %, la especificidad, de 97,8 %; se obtuvo un índice de concordancia IC de 97 %. Conclusión: se puede observar que las dos técnicas inmunológicas utilizadas como métodos serológicos para el estudio de la enfermedad de Chagas poseen una buena concordancia en cuanto a su sensibilidad y especificidad. La implementación de un SD nos garantiza el soporte de un SGC.

**Palabras claves:** *Trypanosoma cruzi*, inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta.

**Abstract** Introduction: Chagas disease or American trypanosomiasis is a systemic parasitic disease caused by *Trypanosoma cruzi*. Chagas disease has three clinical stages: the acute, indeterminate, and chronic stages. Objectives: i) to evaluate the performance of indirect hemagglutination (IHA) serological tests and indirect immunofluorescence (IFI) for the detection of antibodies against *T. cruzi* in Chagas patients; ii) to evaluate the frequency of positive results, and to calculate the concordance, sensitivity and specificity of the IHA method with respect to the IFI in a specific population; and iii) to implement a documentary system in terms of structure and format, as part of a Quality Management System (QMS). Materials and Methods: An observational, retrospective study was carried out, using inclusion and exclusion criteria. Results of patients who attended the Laboratory Service of the Sanatorio Privado Aconcagua, Córdoba, Argentina, were evaluated. The sensitivity and specificity of both methods were evaluated. Laboratory support documents were developed for these methodologies, as part of the QMS. Results: A total of 103 determinations were made: 12 agreed on their positivity for the IHA and IFI techniques, 88 results were negative for both techniques and 3 were discordant for both tests. The sensitivity and specificity for IHA were 92.3% and 97.8% respectively, and a concordance index of 97% was obtained. Conclusion: The two immunological techniques used as serological methods to study Chagas disease have good agreement in terms of their sensitivity and specificity. The implementation of a documentary system guarantees the support of a QMS.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination.

## Introducción

La enfermedad de Chagas o *trypanosomiasis americana* es una enfermedad parasitaria sistémica crónica, de transmisión vectorial, causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Se encuentra en zonas endémicas de 21 países de América Latina, donde se transmite a los seres humanos principalmente por las heces u orina de insectos *triatomíneos*, que se alimentan de sangre, conocidos como “vinchuca”, “chinchas” o con otros nombres, dependiendo de la zona geográfica donde se encuentren. Los *triatomíneos*, por lo general, viven en las grietas y huecos de las viviendas, tanto en zonas rurales como en zonas suburbanas y urbanas. Permanecen normalmente, ocultos durante el día y entran en actividad por la noche, alimentándose de sangre<sup>1</sup>.

El *T. cruzi* se transmite a los seres humanos y otros mamíferos a través de insectos, vectores infectados que pican en zonas expuestas de la piel como la cara y defecan u orinan cerca de la picadura. Los parásitos penetran en el organismo cuando la persona picada se frota instintivamente y empuja las heces o la orina hacia la picadura, los ojos, la boca o alguna lesión cutánea abierta. También se puede transmitir por medio de transfusión de sangre infectada, trasplante de órganos provenientes de una persona infectada, transmisión vertical durante el embarazo o canal de parto, consumo de alimentos contaminados, contacto con heces u orina y por accidentes con material biológico en el laboratorio, entre otras causas.<sup>2</sup>

La enfermedad de Chagas es potencialmente mortal. Se estima que en el mundo habitan aproximadamente 10 millones de personas infectadas por el *T. cruzi*. Inicialmente, la enfermedad de Chagas estaba confinada en la región de las Américas, principalmente en América Latina, pero, en la actualidad, se ha diseminado por otros continentes y, en las últimas décadas, se ha observado con mayor frecuencia en los Estados Unidos de América, Canadá, muchos países europeos y algunos del Pacífico Occidental<sup>3</sup>.

Es una enfermedad grave, pero curable, si se efectúa el tratamiento adecuado [antiparasitarios]. Dada su evolución, esta enfermedad cursa hacia la cronicidad atravesando tres etapas: aguda, indeterminada, y crónica.

- Etapa aguda: comienza luego de haber estado en contacto con el parásito a través de cualquiera de las vías antes mencionadas; puede durar entre cuatro y seis semanas y presentarse con o sin sintomatología. En caso de manifestarse síntomas, estos pueden aparecer entre los 5 y 14 días posteriores a la picadura del insecto infectado. Una manifestación clásica, aunque no siempre evidente, consiste en la hinchazón de uno o los dos párpados, llamada “signo de Romana”. En general, es difícil el diagnóstico clínico de la etapa aguda, la cual, mayoritariamente, pasa desapercibida.<sup>4</sup>
- Etapa indeterminada: es el período que continúa luego de la fase aguda; puede durar varios años o incluso toda la vida y se caracteriza por la ausencia de síntomas cardíacos,

digestivos u otros. Generalmente, el 30 % de las personas infectadas evoluciona hacia la fase crónica luego de un período que puede oscilar entre 15 y 30 años. Esta etapa puede detectarse a través de la realización de un análisis de sangre [determinación serológica].<sup>5</sup>

- Etapa crónica: es la etapa en la que se desarrolla la “enfermedad” de Chagas propiamente dicha. Suele presentarse luego de 15 a 20 años de producida la infección y solo evoluciona en dos o tres de cada diez casos. Las manifestaciones son consecuencia de lesiones orgánicas irreversibles y progresivas, generalmente, a nivel cardíaco, y puede estar afectado también el tracto gastrointestinal.<sup>6</sup> El diagnóstico de infección por *T. cruzi* se realiza por métodos parasitológicos directos o métodos serológicos. Los métodos directos implican la visualización del parásito en la sangre del paciente y tienen relevancia para el diagnóstico de infección por *T. cruzi* en la etapa aguda<sup>7</sup>. Durante la etapa crónica, la baja parasitemia hace que los métodos parasitológicos convencionales sean de escaso valor diagnóstico en el manejo clínico de los pacientes; para ello se deben utilizar los métodos serológicos que implican la detección de anticuerpos específicos anti *T. cruzi* en sangre. En nuestro país, el diagnóstico serológico debe realizarse por, al menos, dos métodos en paralelo y, en caso de discordancia, se debe recurrir a una tercera prueba para su confirmación. Los métodos serológicos tienen que cumplir con los requisitos establecidos y deben estar debidamente estandarizados y validados por el Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chabén, Centro Nacional de Referencia.<sup>8</sup>

En el presente trabajo, se evaluó el desempeño de las pruebas serológicas utilizadas de rutina para la enfermedad de Chagas, con la finalidad de detectar técnicas confiables para el diagnóstico preciso en muestras de pacientes. La hemaglutinación indirecta (HAI) se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti *T. cruzi* de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del *T. cruzi*. En poblaciones endémicas, este método serológico tiene una buena sensibilidad y especificidad en pacientes con enfermedad crónica. La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) utiliza anticuerpos fluorescentes y se basa en la capacidad de los anticuerpos para unirse a ciertos colorantes fluorescentes sin alterar sus propiedades inmunológicas. El procedimiento de la IFI se basa en dos reacciones: en el primer paso, el suero del paciente se pone en contacto con el sustrato antigénico; si los anticuerpos están presentes en el suero, estos se unen al antígeno formando un complejo antígeno-anticuerpo. En el segundo paso, se agrega una antigammaglobulina humana conjugada con el fluorocromo isotiocianato de fluoresceína (FITC). Si el complejo antígeno - anticuerpo se formó en el primer paso, la antigammaglobulina conjugada se unirá a este en el segundo paso. Una reacción positiva se evidencia como una fluorescencia verde manzana brillante, la cual podrá ob-

servarse con ayuda de un microscopio de fluorescencia. La técnica de IFI tiene una sensibilidad aproximada de 70 - 90 % en las primeras semanas, en pacientes en la etapa aguda y un 100 %, en pacientes en la etapa crónica de la enfermedad de Chagas.

Además, en este trabajo, se planteó como objetivo desarrollar un sistema documental (SD) que facilite el flujo de documentos, de manera manual o electrónica, ya que este sistema es óptimo para vincular toda la información sobre el funcionamiento interno de la organización y alcanzar un mayor rendimiento y eficiencia.

Conceptualmente, un SD está diseñado para almacenar, administrar y controlar el flujo de documentos dentro de una organización. Se trata de una estrategia de organización de los documentos para que los usuarios puedan acceder de forma fácil y sencilla y se utiliza para transmitir y asegurar que todas las personas que hacen una tarea común la realicen siempre de la misma forma [armonizando, consecuentemente, la forma de trabajo].

Un sistema de gestión de calidad (SGC) aporta, entre otros beneficios, un sistema de control de documentos, que identifica las políticas aplicadas en ese momento, los procesos, los procedimientos y formularios para realizar los registros de las acciones realizadas; además, describe los elementos de un sistema de gestión documental, que incluye la identificación y el control de documentos, la creación de nuevos documentos, revisión y proceso de aprobación, el proceso de cambio de documentos, la revisión periódica de los mismos, de archivo, almacenamiento y retención.<sup>9</sup> La estructura de los documentos debe ser uniforme y presentar un número único de identificación, número de versión, título del documento, nombre de la autoridad revisora, fecha de emisión, índice de registro de documentos, que se debe mantener para identificar los documentos actuales y la ubicación de todas las copias. La documentación y registro aportan orden interno en la empresa y permiten, enfrentar con mayor integridad y dinamismo los cambios incesantes del mercado.

El SD también suministra las bases estructurales para la realización de las auditorías internas, donde el mismo personal debidamente capacitado y con conocimientos sobre los procesos verifica, de una forma objetiva e independiente, que lo establecido en la documentación es lo que efectivamente se realiza.<sup>10</sup> El SD en su conjunto representa una evidencia objetiva del sistema de calidad, que permite la trazabilidad de los resultados. La redacción de los documentos debe ejecutarse de forma clara y precisa y así, lograr una secuencia lógica en el armado del SD. La estructura de un SD se dispone jerárquicamente en una pirámide: se ubica de manera ordenada, en la cima, el nivel de los documentos de mayor importancia y que, básicamente, constituyen, a la vez, la política y manual de calidad, los cuales describen en su conjunto el SGC de la organización (Figura 1). El nivel II está conformado por procedimientos generales y operativos, los cuales representan la estructura central del SD. En el nivel III, se sitúan los instructivos de trabajo, que son documentos dinámicos y

**Figura 1.** Pirámide Documental.



► Pirámide documental de un sistema de gestión de calidad. Se evidencian los diferentes tipos de documentos y sus jerarquías, en orden ascendente. Fuente: <http://denovaelturismo.blogspot.com/2019/01/piramide-documental.html>.

de menor envergadura que los citados anteriormente. Finalmente, en el nivel IV, representando la base de la pirámide documental, se sitúan los registros, imprescindibles para dar sostén a la estructura de un SGC<sup>11</sup>, que representan la evidencia objetiva de las actividades realizadas.

Un SGC tiene un reconocimiento importante por parte de los integrantes de la institución, en la que los compromisos asumidos son esenciales para garantizar la calidad en todas las actividades y procesos dentro de la organización. En este sentido, las normas ISO (*International Standardization Organization*) proveen lineamientos en cuanto a los requisitos para la competencia y la calidad respecto de las actividades que se desarrollan en una organización. La estructura o jerarquía de la documentación de un SGC se alinea con los procesos del laboratorio y los puntos de la norma aplicable a dicho sistema. El desarrollo de esta documentación es esencial que se haga de una manera sistemática y estructurada, basada sobre este tipo de normativas.<sup>12</sup>

En este trabajo, para elaborar nuestro SD, nos basamos en la Norma ISO 9001:2015<sup>13</sup>, Sistemas de gestión de la calidad, la cual es una herramienta que contribuye a mejorar y controlar el rendimiento de una organización para lograr la eficiencia en el trabajo, la excelencia en la atención al cliente y la calidad de productos y servicios. Los principales beneficios de la implementación de esta norma, podrían resumirse en los siguientes: mejora de credibilidad e imagen de la institución; mejora de la satisfacción del cliente, al planificar y cumplir los requerimientos del mismo; mejoramiento de la integración de los procesos en eficiencia y ahorro de costos; mejora de la evidencia objetiva, a través de los registros, para la toma de decisiones; creación de una cultura de mejora continua, principio clave en la construcción e implementación de los SGC y generación de compromiso y empoderamiento de los usuarios del SGC (cliente interno).

En este contexto, el ciclo de Deming es una herramienta

que permite optimizar el funcionamiento de un SGC. El mismo se basa en la estrategia de planear - hacer - verificar - actuar, lo cual permite a una organización asegurarse de que sus procesos cuenten con recursos y que los mismos se gestionen adecuadamente, al determinarse las oportunidades de mejoras, y que se actúe en consecuencia (Figura 2).<sup>14</sup>

Al implementar el ciclo de Deming en una organización, se apunta a eliminar los problemas y alcanzar nuevos niveles de calidad y desempeño en cuanto a competitividad de los productos y servicios, mejorando continuamente la calidad, reduciendo los costos, optimizando la productividad y aumentando la rentabilidad de la organización.<sup>15</sup>

En este trabajo, se realizó una investigación inicial de nuestro laboratorio privado para ver con qué información contábamos y con base en esto, poder planificar el desarrollo e implementación de nuestro SD.

El objetivo general fue evaluar el desempeño de los métodos serológicos a través de la técnica de hemaglutinación indirecta para la detección de anticuerpo contra *trypanosoma cruzi* (HAI) y de la inmunofluorescencia indirecta (IFI) para el diagnóstico de Chagas, desarrollando un SD que nos sirviera de soporte y garantizara mejorar nuestros análisis, cumpliendo con los requerimientos de nuestros clientes.

Los objetivos específicos fueron:

- Conocer la frecuencia de resultados positivos de HAI e IFI para el diagnóstico de Chagas en nuestra población estudiada.
- Evaluar la sensibilidad y especificidad de los métodos serológicos.
- Desarrollar e implementar un SD, contemplando los métodos serológicos mencionados y su inserción en el resto de la estructura del laboratorio.

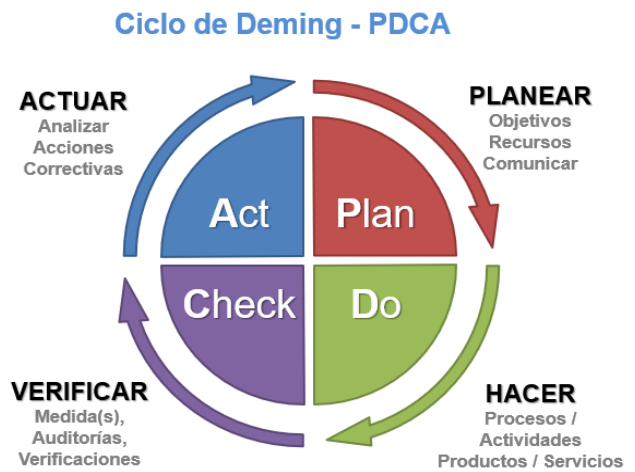
### Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, con criterio de exclusión y criterio de inclusión en el Laboratorio del Sanatorio Privado Aconcagua de la ciudad de Córdoba.

Se recolectaron datos del archivo informático *Labcore* del Laboratorio Privado Aconcagua correspondientes al período enero-agosto del año 2018. Se analizaron resultados, en paralelo, de los métodos HAI e IFI de 103 muestras de sueros de pacientes que concurren a nuestro establecimiento.

Criterio de inclusión: se incluyeron pacientes de ambos sexos, adultos mayores de 18 años y menores de 70 años, a

Figura 2. Ciclo de Deming (PDCA).



► Ciclo de Deming: permite optimizar el funcionamiento, basándose sobre estrategias como planificar - hacer - verificar - actuar, asegurándose un proceso de mejora continua.

los cuales se les solicitaron HAI e IFI por sospecha de Chagas.

Criterio de exclusión: se excluyeron pacientes que no tenían las dos determinaciones en paralelo.

Técnicas de Laboratorio: se analizaron datos de resultados obtenidos por las siguientes técnicas, las cuales fueron llevadas a cabo según recomendaciones del fabricante: Chagas HAI (Wiener Lab) e IFI Chagas (Biocientífica).

Obtención de datos: los datos se obtuvieron del sistema *Labcore*, que es un sistema integral del que dispone el Laboratorio Privado Aconcagua. Se solicitó al servicio del área de Serología el archivo de pacientes que concurren al establecimiento para el estudio del par serológico.

Análisis estadísticos: para establecer la sensibilidad y especificidad del par serológico, se siguieron los lineamientos recomendados por la Guía EP12-A2 de *Clinical And Laboratory Standards Institute-USA* (CLSI), para la comparación de métodos cualitativos, con un intervalo de confianza IC 95%.<sup>16</sup>

### Resultados

Se estudiaron 103 pacientes, 58 mujeres (56,3 %) y 45 hombres (43,7%), con un promedio de edad de 41 años (rango de 18 - 70). Del total de 103 muestras, 12 tuvieron concordancia en cuanto a la positividad en los métodos se-

Tabla I. Comparación de resultados de Chagas por el método de *screening* de hemaglutinación indirecta (HAI) e inmunofluorescencia indirecta (IFI).

	IFI (+)	IFI(-)	Total
HAI (+)	12VP	2 FP	14
HAI(-)	1 FN	88VN	89
Total	13	90	103

**Tabla II.** Análisis de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP	VPN
HAI	92,3	97,7	85,7	98,8

► HAI, hemaglutinación indirecta; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo.

rológicos, 88 tuvieron concordancia en cuanto a la negatividad y 3 presentaron discordancia [Tabla I]. Se calculó la sensibilidad: para Chagas, HAI fue de 92,3 % y la especificidad, del 97,8 % con un índice de concordancia total de IC 97,1 % [Tabla II].

El IC total fue de 97,1 % para los dos métodos serológicos, lo que representa una buena concordancia entre las dos pruebas aplicadas.

La técnica HAI es considerada una metodología confiable para la determinación de anticuerpos específicos, no obstante, su resultado tiene que ser verificado por otro método serológico, como puede ser IFI, que permite el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.<sup>17</sup>


En cuanto al desarrollo del SD, se utilizó como referencia la Norma ISO 9001:2015 Sistema de Gestión de la Calidad - Requisitos, y también se contemplaron los lineamientos de la Norma IRAM ISO 15189:2014, Laboratorio Clínico - Requisitos para la calidad y competencia. En este contexto, los laboratorios de análisis clínicos deben demostrar un modelo de gestión de la calidad y crear una cultura de calidad dentro de la organización.<sup>18</sup> Para ello, es necesario el involucramiento de todo el personal de la organización, a fin de lograr un mayor crecimiento y aplicar el concepto de mejora continua. Es un punto esencial del sistema de calidad que el cargo más jerárquico del laboratorio (dirección) esté comprometido con la calidad, de modo de brindar el liderazgo para planear, desarrollar e implementar un SGC.

La importancia de un sistema de gestión de documentos es que se detallan operaciones de la organización tales como producción, recepción, distribución, conservación y disposición final de los documentos. El hecho de organizar los documentos y darle un formato desde su creación hasta su implementación es un factor clave para la optimización del proceso y el desarrollo de las actividades que contribuyen a la mejora continua. En este sentido, en nuestra estructura y formato documental se tuvieron en cuenta los objetivos, el alcance que tiene el documento, las normas y referencias sobre las cuales nos basamos, el desarrollo propio de la actividad, la responsabilidad que tiene el personal, y el factor más importante de los documentos, que es el control de los mismos, dado por las firmas de la persona que elaboró el documento, de quien lo revisó y de quién estableció la aprobación del mismo [Figura 3].<sup>19</sup>

Una vez aprobado, el documento puede ser distribuido y debe controlarse con la copia y registro de entrega del mis-

mo. Este documento puede elaborarse en formato electrónico o papel y, en el caso que haya alguna modificación del mismo, se hace un control de cambios, que se incluirá en la parte final del documento. La estructura del documento debe contener también en su versión final las modificaciones realizadas, la descripción de cambios realizados y el motivo de los mismos, así como la fecha en la cual se ha modificado o revisado el documento. La organización definirá los pasos necesarios para la redacción, revisión y aprobación de los distintos documentos del SGC, así como las responsabilidades y metodología aplicada. Estos documentos

**Figura 3.** Estructura y formato del procedimiento operativo del laboratorio.

	<b>PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE ANTICUERPOS <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i></b>	Versión :
		Fecha:
		Pág.:

- Objetivo (para que trabajar con el procedimiento).
- Alcance (a que área aplica el procedimiento).
- Referencias (documentos que se relacionan con este procedimiento).
- Definiciones (De ser necesarias se debe indicar la definición para dar una mayor comprensión al documento).
- Desarrollo (descripción de las actividades, diagramas)
- Responsabilidades (todo el personal que tiene funciones en la actividad).
- Tabla de Control de Registros. Si no cuenta con registros colocar este documento no cuenta con registro o que no aplica.
- Anexos
- Control de firmas

Elaboro	Reviso	Aprobó
Preparado por: cargo/firma (en el caso que corresponda)	Jefe de sistema carga/ firma Revisado por jefe de unidad de gestión de calidad cargo/firma.	Dirección técnica
Fecha		
Firma		

► Fuente:Manual del Laboratorio del Sanatorio Aconcagua.

**Figura 4.** Planilla de control de cambio de un documento del Laboratorio Aconcagua.

Versión	Descripción del cambio	Motivo del cambio	Fecha

► Fuente: Manual del Laboratorio del Sanatorio Aconcagua. Cualquier modificación de un procedimiento debe ser registrado, tanto su descripción como el motivo del cambio de ese documento.

tienen que ser claros y concisos, deben evitar dudas en la interpretación y ser fáciles de seguir por cualquier personal calificado. (Figura 4).

Al desarrollar el SD basados en los lineamientos de una norma internacional, se logró mejorar el proceso en el área de Serología en las etapas preanalítica, analítica y postanalítica, y se obtuvieron avances en la confidencialidad de los resultados; también se produjo un ordenamiento interno en la organización, donde ahora se conocen las responsabilidades del personal, y además facilitó la capacitación de nuevo personal.<sup>20</sup>

Durante el proceso de elaboración, se desarrollaron documentos (procedimientos, instructivos y registros) que fueron puestos en vigencia para mejorar el área de Serología del laboratorio. Con esta documentación de procedimientos, se proveyó confianza en cada una de las actividades que se desarrollaron en el Laboratorio.

### Discusión

En cuanto a la metodología utilizada para Chagas HAI, es simple, de tamizaje, económica y tiene una buena sensibilidad y especificidad. Es una técnica manual que no requiere equipamiento, solo agitador y microscopio, y en cuanto a su resultado, es de fácil interpretación.

La técnica inmunológica IFI está basada en la reacción antígeno-anticuerpo; emplea antígenos particulados, es decir, el parásito entero es fijado con formaldehído o glutaraldehído. La particularidad de esta técnica es que utiliza un segundo anticuerpo con una sustancia fluorescente (fluorocromo), normalmente, isotiocianato de fluoresceína. Las lecturas de los resultados de esta prueba deben realizarse en microscopio equipado con luz UV. Esta técnica ha demostrado tener una elevada especificidad, que complementa y ratifica el resultado reactivo obtenido en el tamizaje de la infección.<sup>21</sup>

Los dos métodos elegidos en este trabajo son pruebas inmunológicas que han demostrado tener un buen desempeño para la detección de tripanosomiasis en la etapa crónica de esta enfermedad. Para los pacientes que se encuentran en etapa aguda y que, además, poseen una alta parasitemia, se prefiere el diagnóstico parasitológico directo mediante microscopio. Resultados falsos positivos pueden obtenerse debido a una reacción cruzada con otros parásitos como los de la leishmaniosis (enfermedad con la

misma distribución geográfica que la enfermedad de Chagas]. Los resultados falsos negativos pueden deberse a las variaciones de la etapa de la enfermedad en curso y de la técnica utilizada.<sup>22</sup> En nuestro trabajo debe considerarse que las dos técnicas utilizadas en el laboratorio son de utilidad en la fase crónica de la enfermedad de Chagas.

La evaluación realizada en nuestro laboratorio de las técnicas inmunológicas antes mencionadas fue apoyada por el proceso de desarrollo e implementación de un SD. Esto nos ha permitido realizar el desarrollo de acciones continuas y de mejora para lograr un mayor beneficio en la salud de los pacientes, procurando una buena utilización de nuestros recursos disponibles.<sup>23</sup> La documentación desarrollada nos garantiza el soporte del SGC, dado que en ella se plasman no solamente las formas de operar de la organización, sino toda la información que permite el desarrollo de la totalidad de los procesos y la toma de decisiones. En nuestro laboratorio, comenzamos a desarrollar el SD en el área de Serología y logramos cambios favorables en cuanto a los errores preanalíticos y analíticos, tomando acciones correctivas de mejoras en tiempo real. Esta planificación fue respaldada con la decisión de la alta dirección y de todo el personal de nuestro laboratorio. De esta manera, se construyó nuestra estructura documental, que tiende a la unificación de los criterios para la elaboración, revisión, aprobación y difusión de los diferentes tipos de documentos generados en el SGC.<sup>24</sup> Nuestra perspectiva a futuro es seguir trabajando con el SD en todas las áreas del laboratorio y tener un control del SD que nos permita mejorar el desempeño de los procesos desarrollados en el Laboratorio Aconcagua y así, poder implementar un SGC bajo requisitos de normas internacionales, contribuyendo a la disminución de errores en las etapas preanalítica, analítica y posanalítica con un efecto directo sobre la calidad de atención brindada a los pacientes.

### Referencias bibliográficas

1. Organización Panamericana de la Salud [Internet]. Enfermedad de Chagas 2014 [consulta 15 jul 2020] Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5856:2011-informacion-general-enfermedad-chagas&Itemid=40370&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856:2011-informacion-general-enfermedad-chagas&Itemid=40370&lang=es)
2. OMS [Internet]. La Enfermedad de Chagas, Tripanosomiasis Americana. [11 marzo 2020]; [consulta 25 ago 2020] Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
3. Mitelman JE. Consenso de enfermedad de Chagas-Maza. Rev Argent Car-

- diol. 2011;79(6): 545-564.
4. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimiento de laboratorio para el diagnóstico de tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas). [Internet] Lima Perú 2006 2º ed. [consulta 20 jul 2020] Disponible en: [http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual\\_Enfermedades\\_Chagas.pdf](http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual_Enfermedades_Chagas.pdf).
  5. Ministerio de Salud. Guía de diagnóstico, tratamiento y prevención de la enfermedad de Chagas. [Internet] Santiago, MINSAL 2010. [consulta 30 jul 2020] Disponible en: [https://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com\\_docman&view=download&category\\_slug=zoonosis-779&alias=207-guia-enfermedad-chagas-7&Itemid=518](https://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=zoonosis-779&alias=207-guia-enfermedad-chagas-7&Itemid=518)
  6. Molina I, Salvador F, Montalva-Sánchez A. Actualización en enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(2): 132-138.
  7. OPS. Guía para el diagnóstico y tratamiento para la enfermedad de Chagas. [Internet] Washington, D.C. OPS. 2018; [1-176]. ISBN: 978-92-75-32043-3. [Act 21 jun 2019] [consulta 25 jul 2020]. Disponible en: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/49653/9789275320433\\_spa.pdf?sequence=9&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/49653/9789275320433_spa.pdf?sequence=9&isAllowed=y).
  8. Ministerio de la salud. Norma para el diagnóstico de la infección chagásica. Resolución Ministerial N° 523/97 I.N.P. "Dr. Mario Fatala Chabén" [Internet]. [consulta 30 sep 2020] Disponible en: [http://www.legisladud.gov.ar/pdf/msres523\\_1997\\_chagas.pdf](http://www.legisladud.gov.ar/pdf/msres523_1997_chagas.pdf)
  9. Gutiérrez-Roa F. Documentación de un Sistema de Gestión de Calidad. [Internet] Memorias de la Décima Quinta Conferencia Iberoamericana en Sistemas, Cibernética e Informática [CISCI 2016]. [consulta 20 jul 2020] Disponible en: <http://www.iiis.org/CDs2016/CD2016Summer/papers/CA109WA.pdf>
  10. Briozzo G. Gestión del Laboratorio de Análisis Bioquímico Clínico. Implementación de la Documentación según normas internacionales. *Rev ByPC*. 2007;71(2): 13-36.
  11. Silva - Vázquez D. Sistema de Documentación en la Norma ISO 15189 para un Laboratorio Clínico Público. [Tesis en internet] Universidad Católica Bello Andres. Caracas, 26 de mayo 2015. [consulta 2 ago 2020] Disponible en: <http://biblioteca2.ucab.edu.ve/anexos/biblioteca/marc/texto/AAT3981.pdf>
  12. Norma Argentina. Laboratorio de Análisis Clínico. Requisito para la calidad y competencia. IRAM-ISO 15189:2014 Tercera edición. 2014-11-20.
  13. Norma Argentina. Sistema de Gestión de la Calidad. Requisitos. IRAM-ISO 9001:2015 Tercera edición. 2015-09-25.
  14. Barrios - Maldonado MA. Circulo de Deming en departamento de Producción de las empresas fabricantes de chocolate artesanal de la ciudad de Quetzaltenango. [Tesis en internet] Universidad Rafael Landívar Facultad de Ciencias Económicas y Empresarial. Mayo 2015. [consulta 30 ago 2020] Disponible en: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2015/01/01/Barrios-Maria.pdf>
  15. Westgard J O. Sistemas de Gestión de la Calidad para el Laboratorio Clínico. Walter Coulter ed (Madison): Q C Westgard Inc.. 2014. Disponible en [https://www.ifcc.org/media/433206/SISTEMAS\\_DE\\_GESTION\\_DE\\_CALIDAD\\_PARA\\_EL\\_LABORATORIO\\_CLINICO.pdf](https://www.ifcc.org/media/433206/SISTEMAS_DE_GESTION_DE_CALIDAD_PARA_EL_LABORATORIO_CLINICO.pdf)
  16. CLSI. EP12A2. User protocol for evaluation of qualitative test performance; approved guideline - second edition. Vol 28. N°3. ISBN 1-56238-654-9. Junio 2008.
  17. Ferrer E, Vietri M, Lares M, Medinac M. Comparación entre técnicas inmunológicas y moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(5): 277-282.
  18. Carrero-Gómez L, Vázquez D. Sistema de Gestión de la calidad para Laboratorios privados de Venezuela bajo la Norma Internacional ISO 15189:2012. *Rev Tekhné*. 2017; 20(1): 024-034.
  19. Ortiz-Otalvaro J A. Documentación del Sistema de Gestión de Calidad de la empresa Montevital Ltda según NTC-ISO 9001:2008. [Internet] Universidad Tecnológica de Pereira Facultad de Tecnologías Programa de Química Industrial Pereira 2010. [consulta 1 jul 2020]. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/2054/658562077ds.pdf?jsessionid=75E8047565BF88BFAFB916B698A8CF05?sequence=1>.
  20. Rojas Nápoles L, Pino Moreno R, Peña Arteta Y, De León I, Tapia Claro I. ¿Cómo documentar un Sistema de Gestión de la Calidad según ISO 9001? [Internet] Universidad Libre-Barranquilla, Año 8, No. 15, pp. 115-123 2013. [consulta 20 sep 2020] Disponible en: <file:///D:/Datos/Downloads/DialNet-ComoDocumentarUnSistemaDeGestionDeLaCalidadSegunIS-5980475.pdf>
  21. Duarte L, Flórez O, Rincón G, Gonzales C. Comparación de siete pruebas diagnósticas para detectar infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes en fase crónica de la enfermedad de Chagas. *Colomb Med*. 2014;45(2): 61-66.
  22. Organización Panamericana de la Salud [Internet] La enfermedad de Chagas. A la puerta de los 100 años del conocimiento de una epidemia ancestral. OPS/CD/426-06. Buenos Aires julio 2007. [Consulta 10 jul 2020]. Disponible: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/18387/CD42606.pdf?sequence=3&isAllowed=y>.
  23. Mendoza-Herrera M. Diseño de un Sistema Gestión de la Calidad de para una Microempresa [Internet]. Universidad Veracruzana Maestría en Gestión de la Calidad. Mayo 2008. [Consulta 25 ago 2020]. Disponible en: <https://www.uv.mx/gestion/files/2013/01/miriam-herrera-mendoza.pdf>
  24. Pacheco B, Zamory E, Collino C. Impacto de la implementación de un sistema documental en el aseguramiento de la calidad en un laboratorio de análisis clínicos de un hospital público. *Acta Bioquím Clín Lati-noam* 2019;53(4): 511-24.

# Recomendaciones para el uso de biomarcadores en el paciente con COVID-19. Primera parte

*Recommendations for the use of biomarkers in COVID-19 patients. First part*

Raimondi, Rosana Andrea<sup>1,4</sup>; Quattrocchi, Gabriela<sup>2,4</sup>; Jacquier, Graciela Beatriz<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Sección Urgencias, Laboratorio Central, Departamento de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital General de Agudos Carlos Durand. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Sección Urgencias, Laboratorio Central, Departamento de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital General de Agudos Ignacio Pirovano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Sección Urgencias, Laboratorio Central, Departamento de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital General de Agudos José María Penna. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Comisión de Urgencias y Emergencias, Red de Laboratorios de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (REDLAB).

\*Contacto: Raimondi, Rosana Andrea, Hospital General de Agudos Carlos Durand, Av. Díaz Vélez 5044 (C1405DCS). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; rosana.a.raimondi@gmail.com.

**Resumen** La infección producida por el virus SARS-CoV-2 afecta la estructura de diferentes órganos como el corazón, el riñón y el pulmón. Este daño se puede detectar con pruebas del laboratorio clínico. El presente trabajo es una revisión bibliográfica que intenta acercar al bioquímico una actualización de las características del dímero D y la procalcitonina, métodos diagnósticos, y su utilidad clínica en la enfermedad COVID-19 tanto en el diagnóstico como el seguimiento de los pacientes.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2, COVID-19, dímero D, procalcitonina, biomarcadores.

**Abstract** The infection caused by SARS-CoV-2 affects the structure of different organs such as the heart, kidney and lungs. This damage can be detected by means of clinical laboratory tests. The present work is a bibliographic review that attempts to provide biochemists with an update of the characteristics of the biomarkers D-Dimer and procalcitonin, their diagnostic methods and clinical utility, both in the diagnosis and follow-up of COVID-19 patients.

**Key words:** SARS-CoV-2, COVID-19, D-dimer, procalcitonin, biomarkers.

## Introducción

El laboratorio clínico realiza aportes importantes respecto de la enfermedad COVID-19 en el diagnóstico molecular, serológico y en el control y seguimiento de la enfermedad. En este último punto, los laboratorios de Urgencias recomiendan el uso de biomarcadores. La agencia *National Institutes of Health* define los biomarcadores como aquellas características biológicas, bioquímicas, antropométricas, fisiológicas objetivamente mensurables, capaces de identificar procesos fisiológicos o patológicos, o bien una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica.

Actualmente, no existe ningún biomarcador o combinación de biomarcadores que sea lo suficientemente sensible o específica como para establecer un diagnóstico de infección con el virus de SARS-CoV-2 o predecir pragmáticamente su curso clínico. Sin embargo, el uso de biomarcadores es frecuente durante el transcurso de la enfermedad con el objeto de intentar conocer la evolución y predecir la mortalidad.

Nuestro objetivo es describir las características y utilidad clínica para dímero D, procalcitonina (PCT), troponina y pro-BNP en el contexto del COVID-19, entendiendo que cada centro asistencial deberá consensuar estas recomendaciones de acuerdo con sus necesidades y recursos económicos y profesionales.

Es importante que los laboratorios de Urgencias puedan contar con estas prestaciones para afrontar de manera correcta la atención de los pacientes, pero también es deseable establecer un consenso entre médicos y bioquímicos acerca de la frecuencia y momentos de medición con el objetivo de optimizar las capacidades bioquímicas reales de los laboratorios de análisis clínicos y el uso clínico adecuado. Generalmente, un dato aislado no es suficiente, sino que se necesitan valores seriados que puedan ser interpretados en el contexto de la evolución clínica de los pacientes. Algunos parámetros demostraron ser muy buenos predictores de severidad, por lo que se recomienda contar con estos analitos en el laboratorio de Urgencias.<sup>1</sup>

## Dímero D

El dímero D es un producto de degradación que se genera por la lisis de la malla de fibrina. Dado que el dímero D resulta de la acción secuencial de la trombina, el factor XIIIa y la plasmina sobre la malla de fibrina, es un importante biomarcador de activación de la coagulación y la fibrinólisis disponible en los laboratorios. La vida media de este biomarcador es de 6 a 8 horas y se depura principalmente por el riñón y por el sistema retículoendotelial (SRE). Normalmente, se detecta cierta cantidad de dímero D, ya que entre el 2 y 3 % del fibrinógeno es convertido en fibrina.

## Utilidad clínica

Un aumento de dímero D se da fisiológicamente en neonatos, personas de edad avanzada y embarazadas. Aumenta en situaciones patológicas asociadas a trombosis como

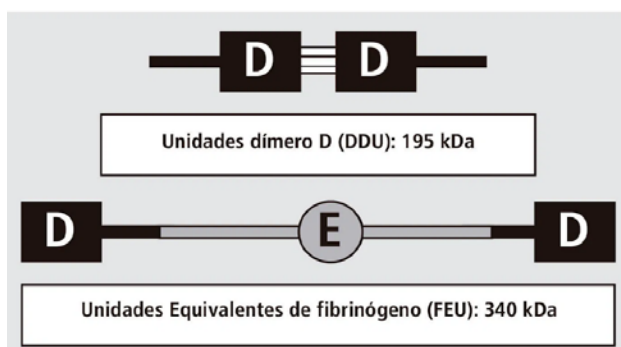
el accidente cerebrovascular (ACV), la trombosis venosa profunda (TVP), tromboembolismo pulmonar (TEP) y la coagulación intravascular diseminada (CID). Otras numerosas situaciones no relacionadas con trombosis en las que está aumentado este biomarcador son: hemorragia, cáncer, síndrome de distrés respiratorio, hemólisis, enfermedad renal, enfermedad hepática, falla cardíaca congestiva, infección, cirugía reciente, trauma, quemaduras, artritis reumatoidea y en pacientes internados.<sup>2</sup> En el laboratorio se utiliza principalmente para el diagnóstico y seguimiento de la CID y para descartar la enfermedad tromboembólica venosa (ETE) en pacientes con probabilidad clínica intermedia o baja. Para este último caso, se necesita que la metodología utilizada tenga alta sensibilidad (SS) y alto valor predictivo negativo (VPN). Por ello es importante informarse de cuáles son las necesidades que tenemos en nuestro centro de trabajo para poder seleccionar la más apropiada.

## Metodología de laboratorio

Existen numerosos métodos en el mercado con distintos formatos y fundamentos. Hay ensayos cualitativos, semicuantitativos y cuantitativos. No todas las metodologías existentes en el mercado hoy en nuestro país cumplen con los requisitos de SS y VPN adecuados. También se genera variabilidad a partir de los distintos anticuerpos utilizados en los ensayos y la existencia de distintos calibradores; como consecuencia de esto último existen dos tipos de unidades para expresar los resultados: las unidades equivalentes de fibrinógeno (FEU en inglés) y las unidades dímero D (DDU en inglés). Las unidades FEU expresan el peso del fragmento en términos del fibrinógeno convertido en fibrina, de la cual proviene el dímero D, y tienen un peso de 340 kDa, aproximadamente (Figura 1). Las unidades DDU expresan el peso del fragmento de dímero D propiamente dicho (195 kDa, aproximadamente). De esta forma, 2 ng/mL FEU son equivalentes a 1 ng/mL DDU.<sup>2</sup>

Es importante destacar que los resultados no son intercambiables entre los distintos métodos de laboratorio. A pesar de varios intentos, todavía no se ha logrado la estan-

Figura 1. Unidades de medida del dímero D.



Adaptado de Alegre MG y col. Disponible en: <https://notiwiener.net/2019/06/consideraciones-en-el-dosaje-de-dimero-d/>

darización ni tampoco la armonización de los distintos ensayos disponibles en el mercado. Los intervalos de referencia que figuran en el inserto del ensayo son determinados con el percentil 95 de la distribución normal de individuos sanos y deben ser verificados por el usuario en cada laboratorio. El punto de corte para la exclusión de la ETEV surge de trabajos con series de 200 a 300 pacientes en donde se calculan la sensibilidad, especificidad y VPN del ensayo para el diagnóstico. En algunos casos puede coincidir el valor superior del intervalo de referencia con el punto de corte para exclusión de ETEV. Tampoco el intervalo de referencia y los puntos de corte son los mismos en todos los métodos. La falta de estandarización en calibradores y anticuerpos utilizados y de valores de corte ha causado, y sigue causando, problemas en la interpretación de resultados por falta de información acerca de las unidades reportadas y puntos de corte.<sup>3</sup>

### Dímero D y SARS-CoV-2

Aproximadamente un 15 % de los pacientes infectados con el virus de SARS-CoV-2 evolucionan con una severidad que requiere hospitalización. En un gran porcentaje de estos pacientes, se observa una coagulopatía caracterizada por hipercoagulabilidad, con riesgo de padecer fenómenos tromboticos venosos y/o arteriales, alteración de las pruebas de coagulación y, rara vez, sangrado. El dímero D es un marcador de la gravedad de esta coagulopatía.

En el laboratorio, el método utilizado debe ser cuantitativo y con un rango reportable adecuado, ya que se observan resultados muy elevados en los pacientes severos. Al igual que lo descrito en otras patologías, en el transcurso de la infección, los valores no son comparables entre las distintas metodologías utilizadas.<sup>4</sup> Se postula que el desproporcionado aumento del dímero D en la infección con SARS-CoV-2 es el resultado de la activación sistémica de la coagulación, con formación de fibrina y lisis de la misma [fuente intravascular] y la lisis directa de fibrina intraalveolar pulmonar a causa de la uroquinasa, producida por las células epiteliales alveolares y del endotelio [fuente extravascular].<sup>5</sup>

### Utilidad en COVID-19

Como predictor de mortalidad en pacientes hospitalizados: Distintos trabajos postulan el uso del valor de dímero D al ingreso hospitalario como predictor de muerte. La mortalidad es significativamente mayor en pacientes con valor mayor o igual a 4 veces el valor de corte para el método, medido al ingreso hospitalario, independientemente del estado clínico y otras variables.<sup>6,7</sup> Nivel de recomendación: moderada a baja.

Como marcador de enfermedad tromboembólica venosa cuando hay un aumento sostenido a un pico: Es útil cuando se dificulta el diagnóstico por imágenes. Distintos trabajos<sup>8,9</sup> señalan que un valor aumentado sostenido en el tiempo o un pico podrían ser marcadores de un fenómeno de TVP o TEP y, junto con otros datos, ayudar en el diagnóstico cuando se hace complejo realizar estudio de imágenes. Nivel de recomendación: baja.

Para decidir el inicio de la anticoagulación, monitorear el efecto y guiar la dosis: La trombopprofilaxis está indicada en todos los pacientes hospitalizados por COVID-19 (excepto contraindicación). Distintos protocolos, según sea el elegido por el centro hospitalario, deciden el cambio en la dosis (profiláctica o de anticoagulación) de acuerdo con los niveles de dímero D, entre otros marcadores.<sup>10</sup> Nivel de recomendación: baja.<sup>11</sup>

Para monitorear la progresión de la enfermedad: El aumento sostenido de los niveles de dímero D sería un marcador de peor pronóstico. El monitoreo dinámico es aconsejable al ingreso y cada 24 - 48 h en pacientes críticos como herramienta en la evaluación del pronóstico y de la progresión de la enfermedad.<sup>12,13</sup> Nivel de recomendación: baja. Se esperan los resultados de los estudios clínicos randomizados y controlados, que están en desarrollo, para conocer el verdadero rol del dímero D para el manejo de los pacientes COVID-19.<sup>14</sup>

### Monitoreo por el laboratorio

Al ingresar a la internación, para tener un valor de base y hacer una estimación inicial del riesgo del paciente, un valor de dímero D inicial mayor o igual a 4 veces el valor superior normal indicaría un peor pronóstico.

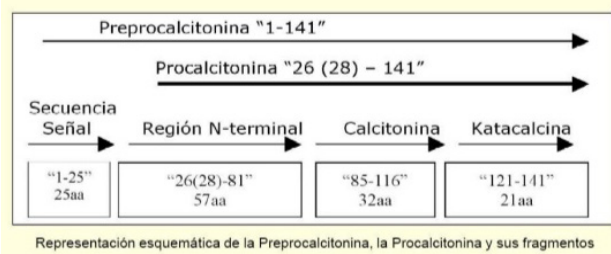
Durante la internación, si el valor del ingreso es menor que 2 veces el límite superior normal, no serían necesarias más determinaciones, salvo desmejora clínica. Si el valor inicial es mayor que 2, pero menor que 6 veces el límite superior normal, se sugiere utilizar el dímero D junto a otros parámetros de laboratorio (ferritina, PCR, LDH, etc.) y la clínica del paciente para predecir el posible deterioro del cuadro o la búsqueda de trombosis, midiéndolo cada 24 o 48 h.<sup>6</sup> Si el valor del ingreso es mayor que 6 veces el límite superior normal, se sugiere el monitoreo de acuerdo con la evolución clínica, ya que un aumento abrupto del dímero D sin el aumento de otros marcadores inflamatorios (PCR, ferritina) podría indicar la presencia de una trombosis.<sup>15</sup>

Para los pacientes internados en Cuidados Críticos, se recomienda el monitoreo cada 24-48 horas. La Sociedad Argentina de Hematología sugiere también para estos pacientes evaluar el desarrollo de la coagulopatía severa como factor pronóstico cada 24 h mediante el cálculo de *scores* CIS/CID de ISTH.<sup>16</sup>

### Procalcitonina (PCT)

Es una proteína de 116 aminoácidos, con un peso molecular de 13 kDa. Fue descubierta en 1975 por un grupo de investigadores españoles dirigido por Moya, estudiando un modelo animal.<sup>17</sup> La producción de PCT es regulada por el gen *CALC-I*, localizado en el brazo corto del cromosoma 11. Este gen codifica una proteína de 141 aminoácidos y 16 kDa, la preprocalcitonina, a partir de la que se produce la procalcitonina por acción de una endopeptidasa en el retículo endoplasmático [Figura 2].<sup>18</sup> Se expresa en las células C de la tiroides y además, en pulmón, páncreas, hígado, intestino, tejido adiposo, etc.. Esta sería una de las evidencias de la producción extratiroidea en situaciones de inflamación, infección o estrés oxidativo.<sup>19</sup>

En condiciones fisiológicas, las células C de la tiroides

**Figura 2.** Representación esquemática de la procalcitonina.

producen PCT en respuesta a la elevación de las concentraciones de Ca en el plasma y a determinados estímulos hormonales (glucocorticoides, glucagón, gastrina, somatostatina y otros). En condiciones patológicas, en los procesos inflamatorios/infecciosos, la PCT no es producida por las células C de la tiroides y su producción no depende de las concentraciones de calcio, sino que está ligada directamente al estímulo generado por antígenos microbianos, sobre todo endotoxinas (como los lipopolisacáridos bacterianos), e, indirectamente, a determinadas citoquinas, sobre todo IL-1, IL-6 y TNF $\alpha$ , que son los verdaderos estímulos para su síntesis, mientras que el INF  $\gamma$  inhibe su producción (Figura 3). El incremento de las concentraciones de PCT en estas situaciones no va seguido de aumento paralelo de calcitonina, lo que se puede deber a que, por un lado, las citoquinas proinflamatorias y las endotoxinas inhiben la proteólisis de la cadena de PCT y, por otro lado, a que, fuera de las células C de la tiroides, no existen los gránulos y enzimas necesarias para su procesamiento.<sup>20-22</sup>

Desde que en 1993 Assicot y col. demostraron la producción de PCT extratiroidea y su relación en los pacientes con sepsis, se han publicado muchos otros trabajos que colocan la PCT como biomarcador.<sup>23</sup>

Hace más de 20 años se conoció la primera definición de sepsis basada en el concepto de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), la cual tenía mucha inespecificidad. Recién en el año 2016, durante la campaña "Sobreviviendo a la Sepsis", el Grupo de Trabajo de las Definiciones de Sepsis (*Sepsis Definitions Task Force*) publica lo que hoy se conoce como SEPSIS-3, que redefine la sepsis como una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección.<sup>24,25</sup>

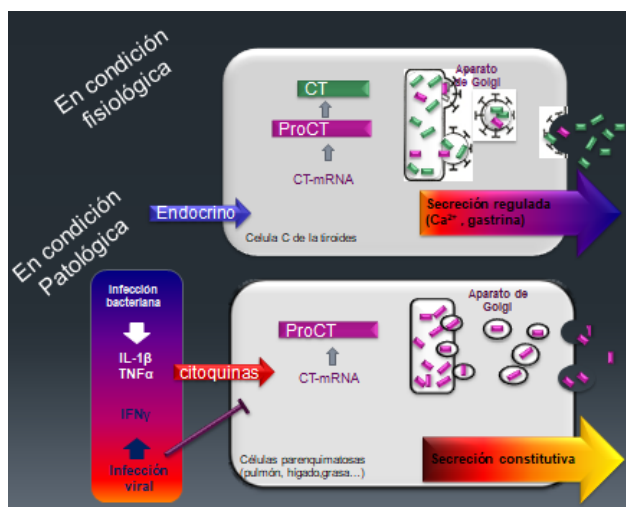
Para el diagnóstico de sepsis se utiliza el *score* SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) o *quick*-SOFA

- Frecuencia respiratoria  $\geq 22$  respiraciones por minuto.
- Alteración de la conciencia (Glasgow  $< 15$ )
- Presión arterial sistólica  $\leq 100$  mm Hg

Y para shock séptico:

- lactato  $> 2$  mmol/l
- e hipotensión refractaria a la reposición de fluidos, ya que se busca reflejar las anomalías metabólicas y celulares causadas por el shock.

Los niveles de PCT suelen ser bajos en infecciones virales, trastornos inflamatorios crónicos o procesos autoin-

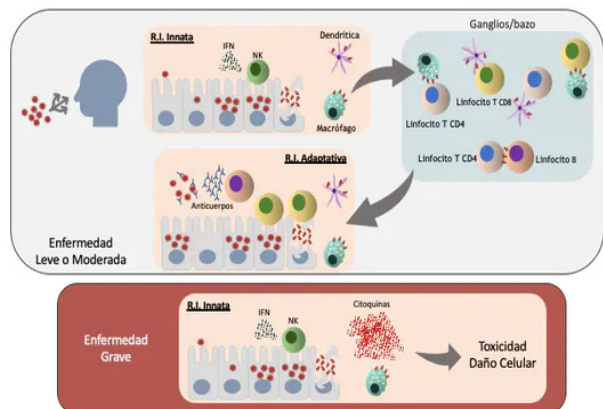
**Figura 3.** Representación de la inducción y síntesis de la procalcitonina.

► Adaptado de Linscheid P, Seboek D, Nylen ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology*. 2003; 144: 5578-84.

munes, mientras que pueden estar aumentados transitoriamente en otros casos como traumas masivos, quemaduras graves, cirugía mayor o cualquier terapia que estimule citoquinas.<sup>26</sup> Sin embargo, en la sepsis los valores son generalmente mayores: se los definió entre 0,5 - 2,0 ng/mL, con una mediana en 1,1 ng/ml y se observó que la sensibilidad y especificidad agrupadas de los niveles séricos de PCT en el diagnóstico precoz de sepsis eran de 0,77 (IC del 95%, 0,72-0,81) y 0,79 (IC del 95%, 0,74-0,84), respectivamente.<sup>27-29</sup>

### Procalcitonina y COVID-19

Las partículas virales ingresan por endocitosis, uniéndose a través de su proteína S (*spike*) al receptor ECA 2 de la célula del huésped. Es un virus RNA monocatenario de polaridad positiva, que vuelca su material en el citoplasma de la célula, donde se transcriben y se traducen las proteínas necesarias para la producción de las proteínas estructurales y para la replicación de su material genético. Posteriormente, el RNA replicado se asocia con la nucleocápside y se ensambla junto con las proteínas estructurales para conformar las partículas víricas que serán liberadas de la célula infectada. La respuesta inmune innata es la primera en responder: a través de los receptores tipo toll (TLR) reconoce a los PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos) - en este caso, el ARN viral - y desencadena la cascada de señalización para la respuesta inmune. El INF regulará la replicación viral y las células NK (*natural Killers*) serán encargadas de destruir a las células infectadas. Luego, los macrófagos y células dendríticas presentarán en su superficie restos virales para activar a los linfocitos T y B en el desencadenamiento de la respuesta inmune adaptativa. Así, los linfocitos T (CD4+) o *helpers* estimularán más macrófagos, NK y linfocitos T (CD8+) o citotóx-

**Figura 4.** Esquema de la respuesta Inmune a la infección por SARS-CoV-2.

icos y regularán directamente la respuesta de los linfocitos B encargados de producir la respuesta inmune humoral.

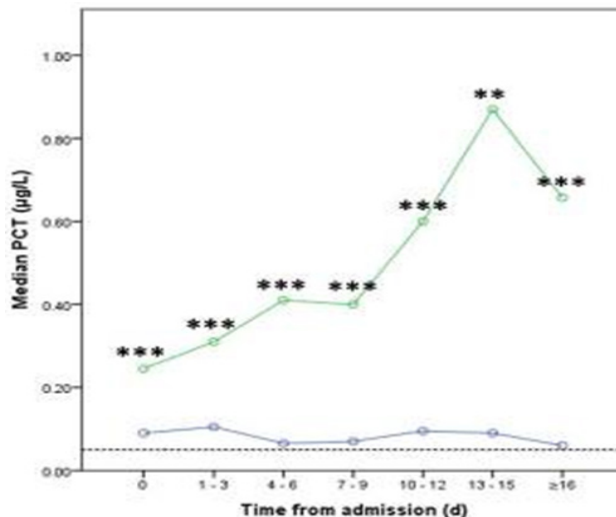
En los cuadros graves, lo que ocurre es un aumento exagerado de secreción de sustancias inflamatorias (citoquinas) por parte de los macrófagos. (Figura 4). Este fenómeno se denomina “tormenta de citoquinas”.<sup>30</sup> Tal como vimos anteriormente, con el aumento de citoquinas (TNF, IL, etc.) aumenta la producción de PCT extratiroidea y, por lo tanto, sería un marcador de gravedad.<sup>31,32</sup>

Varios autores publicaron parámetros de laboratorio que indicarían identificación, progresión a enfermedad grave e incluso seguimiento de los pacientes que padecen infección por SARS-COV2. Dentro de ellos se encuentran los valores aumentados de PCT. Incluso se observó que la cantidad de pacientes con valores anormales de PCT ingresados en UCI fue más de 3 veces superior a la de los que no (75 % vs 22 %;  $p < 0,001$ )<sup>33,34</sup>, esto podría deberse a una sobreinfección bacteriana o bien a la respuesta inmune descontrolada que caracteriza a la enfermedad grave por SARS-CoV-2. La coinfección y sobreinfección bacteriana/fúngica en los pacientes COVID-19 es inferior a la de otras infecciones por virus respiratorios y no pudo hallarse una fuerte vinculación entre ambas<sup>35</sup>, pero sí se comprobó que incrementa significativamente la gravedad y mortalidad de estos pacientes.<sup>36</sup>

G.Lippi y M.Pleblani presentaron un metaanálisis<sup>37</sup> donde se sugiere la medición seriada de PCT como predictor de la evolución hacia una forma más grave de enfermedad por SARS-CoV-2. Se concluye que niveles altos seriados de PCT tienen casi 5 veces mayor probabilidad de evolucionar a cuadros graves de COVID-19. Esto es atribuible tanto a la coinfección bacteriana como al cuadro de hiperinflamación que desarrollan en estos estadios. Aún faltan más datos clínicos y de laboratorio para una mejor interpretación.

#### Cinética, eliminación y monitorización de PCT

Respecto de su cinética, la inducción de la PCT es rápida y se detecta a las 3 - 6 horas tras el estímulo bacteriano, con el pico a las 12 - 24 h y con una vida media de 24 horas. La

**Figura 5.** Valores de PCT en 2 grupos de pacientes con COVID-19 grave ingresados en Cuidados Críticos.

► Dos grupos de pacientes con COVID-19 grave ingresados en Cuidados Críticos durante 20 días, un grupo con evento de muerte y otro grupo con evento de alta médica. Nota: Las líneas imaginarias indicaban el límite de referencia normal; Prueba U de Man-Whitney (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ). Adaptado de Factors associated with death outcome in patients with severe coronavirus disease-19 (COVID-19): a case-control study. Int J Med Sci. 2020 May

vía específica de eliminación de la PCT no ha sido establecida, aunque, probablemente, sea degradada por proteólisis. La excreción renal es insignificante y por tal motivo su concentración plasmática no se vería afectada en la insuficiencia renal.<sup>38</sup> La monitorización dinámica de PCT y otros parámetros de laboratorio podría ser significativa para predecir el pronóstico de pacientes graves, como se muestra en la figura 5.<sup>39</sup> Se recomienda tener un valor al ingreso (VPN) y, al menos, un segundo valor no antes de las 24 - 48 h (considerando la vida media de la PCT). Si fuera posible, continuar la monitorización a los 7- 10 -15 días.

#### Metodología de laboratorio

La PCT es una molécula muy estable *in vitro*, por lo que es fácil su manejo preanalítico y se agiliza su determinación en la práctica clínica. Se puede medir en suero o plasma y es estable por 24 h a 4 - 8°C y por 3 meses, a -20°C. Para el dosaje de PCT existen diferentes ensayos, métodos semicuantitativos y métodos cuantitativos, como se muestra en la tabla I.<sup>40</sup>

#### Conclusiones

Por lo visto, tanto el dímero D como la procalcitonina son biomarcadores útiles en el seguimiento de los pacientes con diagnóstico de COVID-19. En ciertos pacientes que cursan la infección por SARS-CoV-2, se observa que el dímero D muestra un desproporcionado aumento como resultado de la activación sistémica de la coagulación, formación de fibrina y lisis de la misma [fuente intravascular] y por la lisis

**Tabla I.** Pruebas para el dosaje de procalcitonina.

	Tipo de ensayo	Principio del test	Tiempo	Lectura	Intervalo de medición
PCT-Q	Semi cuanti	Inmunoensayo cromatográfico en fase sólida tipo sandwich	30 min	Visualizar intensidad de la banda	0,5-10 ng/ml
LIAISON	Cuanti	Ensayo Inmunoluminométrico	30 min	Semiautomatizados/Automatizado señal del Isoluminol en curva de calibración	0,25-500 ng/ml
KRYPTOR	Cuanti	Ensayo Inmunofluorescente	20 min	Automatizado, mide la señal de un inmunocomplejo. Transferencia de energía no radiante entre dos trazadores fluorescentes interpolada en curva de calibración	0,02-50 ng/ml
ELECSYS	Cuanti	Ensayo Quimioluminiscente	20 min	Automatizado, mide señal de inmunocomplejo marcado con quelato de rutenio y partículas de estreptavidina. Emisión Quimioluminiscente proporcional a la concentración, por curva de calibración	0,02-100 ng/ml
VIDAS	Cuanti	ELFA	20 min	Automatizado, mide señal fluorescente del compuesto fosforado y la intensidad es proporcional a la concentración	0,05-200 ng/ml

directa de fibrina intraalveolar pulmonar por la uroquinasa producida por las células epiteliales alveolares y del endotelio [fuente extravascular]<sup>4</sup>; también se ve un aumento de la producción de PCT extratiroidea como consecuencia del aumento de citoquinas (TNF, IL, etc.)<sup>31,32</sup> por lo que ambos biomarcadores indicarían la gravedad del cuadro. Además, el aumento de dímero D podría indicar el momento del inicio del tratamiento de anticoagulación al paciente.<sup>10,16</sup>

Cada institución realizará el algoritmo consensuado entre los médicos y bioquímicos para el seguimiento de los pacientes.

### Referencias bibliográficas

- COVID-19: Parámetros Bioquímicos de Importancia. Capítulo Bioquímico, Sociedad Argentina de Terapia Intensiva (SATI). 29 de marzo 2020. Versión 002. [Internet]. Disponible en [http://cofybcf.org.ar/src/img\\_up/25062020.1.pdf](http://cofybcf.org.ar/src/img_up/25062020.1.pdf).
- Rosa CM. Dímero D y COVID-19. Artículo de divulgación Grupo Cooperativo Argentino de Hemostasia y Trombosis (CAHT). Setiembre 2020. [Internet]. Disponible en: <https://www.grupocaht.com/wp-content/uploads/2020/10/DD-y-COVID-19-DMT-Set-2020.pdf>.
- Favaloro EJ, Thachil J. Reporting of D-dimer data in COVID-19: some confusion and potential for misinformation. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(8):1191-99.
- Rosa C, Zirpoli M, Sueldo E, Arias M, Ceresetto J, Dubosq C. Estudio comparativo de 4 métodos de Dímero D en una serie de muestras de pacientes COVID-19. XIV Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis. 6-9 Abril 2021.
- Levi, M, Hunt, BJ. Thrombosis and coagulopathy in COVID 19: An illustrated review. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020; 4:744-751.
- Sakka M, Connors JM, Hékimian G, et al. Association between D-Dimer levels and mortality in patients with coronavirus disease 2019 [COVID-19]: a systematic review and pooled analysis. *J Med Vasc*. 2020;45(5):268-74.
- Zhang L, Yan X, Fan Q, Liu H, Liu X, Liu Z et al. D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. *J Thromb Haemost*. 2020;18(6):1324-29.
- Porfidia A, Valeriani E, Pola R, Porreca E, Rutjes AWS, Di Nisio M. Venous thromboembolism in patients with COVID-19: Systematic review and meta-analysis. *Thromb Res*. 2020;196:67-74.
- Faggiano P, Bonelli A, Paris S, et al. Acute pulmonary embolism in COVID-19 disease: Preliminary report on seven patients. *Int J Cardiol*. 2020; 313:129-31.
- Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D, Chuich T, Dreyfus I, Driggin E et al. Global COVID-19 Thrombosis Collaborative Group, Endorsed by the ISTH, NATF, ESVM, and the IUA, Supported by the ESC Working Group on Pulmonary Circulation and Right Ventricular Function [2020]. COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-Up: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*;75(23):2950-73.
- Moreno G, Carbonell R, Bodí M, Rodríguez A. Systematic review of the prognostic utility of D-dimer, disseminated intravascular coagulation, and anticoagulant therapy in COVID-19 critically ill patients. *Med Intensiva (Engl Ed)*. 2021;45(1):42-55.
- Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-47.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28; 395(10229):1054-62.
- Systematic review of the prognostic utility of D-dimer, disseminated intravascular coagulation, and anticoagulant therapy in COVID-19 criti-

- cally ill patients. *Med Intensiva*. 2021;45(1):42-55.
15. Thachil J, Cushman M, Srivastava A. A proposal for staging COVID-19 coagulopathy. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020;4(5):731-736.
  16. Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. Ministerio de Salud. Dirección General de Redes de Servicio de Salud. Red de Gestión de Laboratorios, Área Hematología, Hemostasia. Recomendación para el uso de dímero D y otras pruebas de hemostasia en el seguimiento del paciente con COVID-19. Fecha: 18 de mayo 2020.
  17. Moya F, Nieto A, R-Candela JL. Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *Eur J Biochem*. 1975; 55(2):407-13.
  18. Maruna P, Nedelniková K, Gürlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res*. 2000; 49 Suppl 1:S57-61.
  19. Müller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(1):396-404.
  20. Guzmán B, Correa D, Caballase E, Calderón C. Citocinas y otras moléculas involucradas en sepsis y en pacientes con sepsis y complicaciones de neutropenia. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*. 2004;13(1):15-23.
  21. Carrillo Esper, Raúl; Perez Catalud, Ángel. Procalcitonina como marcador de procesos infecciosos en cirugía: Conceptos actuales. *Cir. gen, México*, v.35, n.1, p.49-55, marzo 2013. [Accedido 16 may 2021]. Disponible en <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-00992013000100009&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-00992013000100009&lng=es&nrm=iso)>.
  22. Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(6):1605-8.
  23. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*. 1993; 341(8844):515-8.
  24. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8):801-10.
  25. González C, Kanoore Edul V. Comentario acerca el tercer consenso internacional para la definición de sepsis y shock séptico: SEPSIS-3. Disponible en: <https://www.sati.org.ar/files/ComiteShockySepsis3.pdf>
  26. Markanday A. Reactivos de fase aguda en infecciones: Revisión basada en evidencia y una guía para médicos. *Foro Abierto Infect Dis*. 2015; 2(3):ofv098.
  27. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin como marcador diagnóstico para sepsis: una revisión sistemática y metanálisis. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(5):426-35.
  28. Yu H, Nie L, Liu A, Wu K, Hsein YC, Yen DW et al. Combinación de procalcitonina con qSOFA y predicción de mortalidad por sepsis. *Medicina (Baltimore)*. 2019;98(23):e15981.
  29. Jekarl DW, Lee S, Kim M, Kim Y, Woo SH, Lee WJ. Procalcitonina como marcador pronóstico de sepsis basado en SEPSIS-3. *J Clin Lab Anal*. 2019;33(9): e22996.
  30. Sinha P, Matthay MA, Calfee CS. Is a "Cytokine Storm" Relevant to COVID-19? *JAMA Intern Med*. 2020; 180(9):1152-54.
  31. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, et al. Características, evaluación y tratamiento del coronavirus (COVID-19) [Accedido 20 abr 2021]. [Internet]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
  32. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin como marcador diagnóstico para sepsis: una revisión sistemática y metanálisis. *Lancet Infect Dis*. 2013; 13(5):426-35.
  33. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med*. 2020; 58(7):1131-1134.
  34. Liu F, Li L, Xu M, Wu J, Luo D, Zhu Y et al. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol* 2020; 127:104370.
  35. Rawson TM, Moore LSP, Zhu N, Ranganathan N, Skolimowska K, Gilchrist M et al. Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. *Clin Infect Dis*. 2020;71(9):2459-68.
  36. Nebreda-Mayoral T, Miguel-Gómez MT, March-Rosselló GA, Puente-Fuertes L, Cantón-Benitoa E, Martínez-García AM et al. Infección bacteriana / fúngica en pacientes con COVID-19 ingresados en un hospital de tercer nivel de Castilla y León, España. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2020; S0213-005X(20)30404-3.
  37. Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta*. 2020; 505:190-91.
  38. García de Guadiana Romualdo L, Guillén Campuzano E. Aportación del laboratorio clínico para el manejo del paciente con infección/sepsis. Mayo 2018 Ed. Cont. Lab. Clin 33: 74 – 92. ISBN 978-84-697-4017-0. Disponible en: <https://www.seqc.es/download/tema/24/5614/3626021/1776667/cms/tema-8-aptacion-del-laboratorio-clinico-para-el-manejo-del-paciente-con-infeccion-sepsis.pdf/>
  39. Pan F, Yang L, Li Y, Liang B, Li L, Ye T et al. Factors associated with death outcome in patients with severe coronavirus disease-19 (COVID-19): a case-control study. *Int J Med Sci*. 2020;17(9):1281-92.
  40. Scalzadonna RF. Procalcitonina: utilidad y recomendaciones para su medición en el laboratorio. 8º Jornadas de actualización en Especialidades Bioquímicas 2011. Disponible: <https://cobico.com.ar/wp-content/archivos/Procalcitonina-SCALZADONNA.pdf>

# CURSOS ABA

## ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

### CICLO LECTIVO 2021

#### PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

##### Informes e inscripción

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina

Venezuela 1823 Piso 3 (1096) – Buenos Aires -Argentina

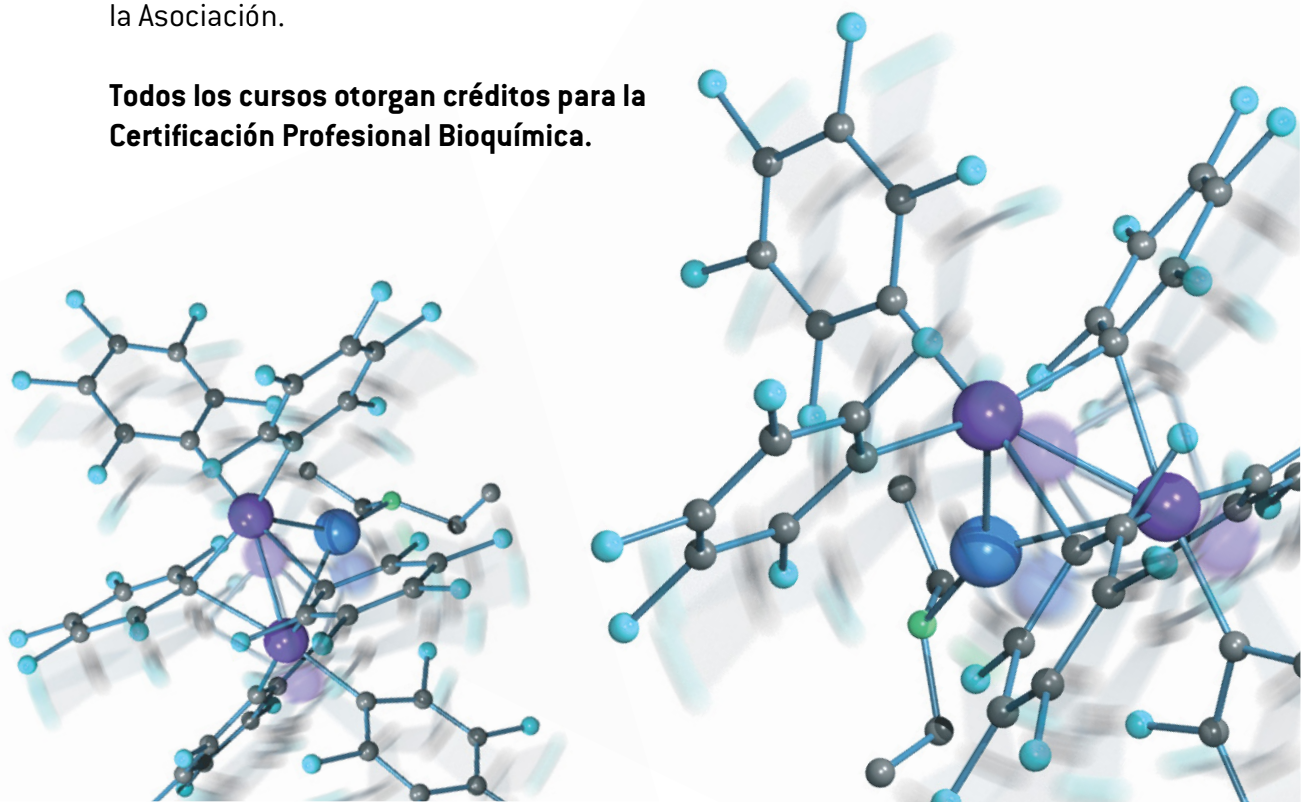
Tel: (011) 4381-2907 Telefax: (011) 4384-7415 - De 15 a 19 Hs.

**Consultas administrativas:** [cursos@aba-online.org.ar](mailto: cursos@aba-online.org.ar)

**Programas completos disponibles en:** <http://www.aba-online.org.ar/>

**Nota para no socios:** abonando la primera cuota social y adhiriendo al débito automático por tarjeta, podrá acceder a los cursos ABA como socio, recibiendo además todos los beneficios de la Asociación.

**Todos los cursos otorgan créditos para la Certificación Profesional Bioquímica.**



## PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTÍNUA ABA 2021

### SEGUNDO SEMESTRE

Nº	NOMBRE DEL CURSO	FECHA	DURACIÓN	DIRECTORES
1	CRITERIOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA MORFOLOGÍA DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS ¿CÓMO Y QUÉ INFORMAR?	7/5/2021	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
2	APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA - CURSO POR CONVENIO: ABA - GRCF	7/5/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa Dra. Emilse Bermejo
3	CURSO DE NEUROINMUNOLOGÍA	7/5/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia G. Ramos Dr. Andres Villa Dr. Gabriel Carballo
4	UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES EN SEPSIS BACTERIANA Y COVID-19	7/12/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia Gonzalez
5	HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	7/12/2021	SEMESTRAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
6	HERRAMIENTAS DEL LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DE LOS ERRORES CONGÉNITOS DEL METABOLISMO INTERMEDIO. Teórico Práctico Online	7/12/2021	SEMESTRAL	Dr. Raúl Uicich
7	INFECCIONES SEVERAS, AGENTES MULTIRRESISTENTES Y SU POSIBLE ABORDAJE	7/19/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovenski
8	SALUD FETAL - HERRAMIENTAS NO INVASIVAS PARA EL SCREENING Y DETECCIÓN DE ANEUPLOIDÍAS Y PREECLAMPSIA. UNA PUESTA AL DÍA	7/26/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. Patricia Maidana
9	CURSO DE NEUROINMUNOLOGÍA	7/26/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia G. Ramos Dr. Andres Villa Dr. Gabriel Carballo
10	CURSOS TEÓRICO PRÁCTICO DE MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS <b>(NUEVO)</b>	8/2/2021	TRIMESTRAL	Dra. Silvina Farrando Dra. María Laura Sánchez
11	CURSO DE AUTOINMUNIDAD - CLÍNICA Y LABORATORIO	8/2/2021	TRIMESTRAL	Dr. Gabriel Carballo
12	INMUNOLOGÍA CELULAR - EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE Y SUS PATOLOGÍAS	8/9/2021	TRIMESTRAL	Dr. Gabriel Carballo Dra. Viviana Novoa
13	EVALUACIÓN DEL SEMEN HUMANO, según los criterios del manual OMS-5ta Edición	8/9/2021	CUATRIMESTRAL	Dra. Julia Irene Ariagno
14	PLASMA RICO EN PLAQUETAS: APLICACIONES, ALCANCES Y LIMITACIONES <b>(NUEVO)</b>	8/9/2021	TRIMESTRAL	Dra. María Victoria Nadal
15	EXAMEN DE ORINA ASPECTOS CITOLÓGICOS Y MICROBIOLÓGICOS <b>(NUEVO)</b>	8/16/2021	TRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro
16	TÓPICOS DE HEMATOLOGÍA EN EL NEONATO	8/23/2021	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
17	CURSO DE IMPLEMENTACIÓN DE PENSAMIENTO BASADO EN RIESGO (Gestión de riesgo) <b>(NUEVO)</b>	8/23/2021	BIMESTRAL	Dr. César Collino Dr. César Yené Dr. Pablo Lujan Dr. Claudio Abiega
18	FUNDAMENTO Y CONTROL DE LAS DISTINTAS TERAPIAS ANTICOAGULANTES	9/6/2021	TRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
19	CURSO DE HISTOCOMPATIBILIDAD	PASA A 2022	PASA A 2022	Dr. Gabriel Carballo Dr. Fernando Torletti
20	EL ROL DEL LABORATORIO EN LA SEGURIDAD DEL PACIENTE	9/27/2021	TRIMESTRAL	Dra. María Isabel Giménez Dra. Silvana Daverio
21	MÉDICOS Y BIOQUÍMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA PATOLOGÍA ONCOLÓGICA <b>(NUEVO)</b>	PASA A 2022	PASA A 2022	Dra. María Rugiero Dr. Eduardo Mormandi

# SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



## ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA

Fundada el 3 de septiembre de 1934

### Miembro Fundador:

*Confederación Unificada Bioquímica de la Republica Argentina (CUBRA); Coordinadora de Colegios Bioquímicos de Ley de la República Argentina; Sociedad de Bioquímica y Patología Clínica del MERCOSUR.*

### Institución Invitada:

*Ente Coordinador de Unidades Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB)*

### Miembro Adherente:

*Asociación Latinoamericana Patología Clínica.*

### Integrante:

*Comisión Nacional de Certificación Bioquímica (COCERBIN); Comisión de Elaboración de Normas y Guías de Laboratorio del Ministerio de Salud y Acción Social; Consejo Asesor y del Comité de Auditoría Interna Programa de Acreditación de Laboratorios de la Fundación Bioquímica Argentina.*

La ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA es la primera entidad Bioquímica de nuestro país, y la precursora de muchas otras en Latinoamérica.

### Los objetivos que llevaron a su creación, siguen vigentes en la actualidad:

- 1 | Promover la educación continua de los bioquímicos.
- 2 | Editar la Revista Bioquímica y Patología Clínica, que es la revista científica de la Asociación, de distribución cuatrimestral.
- 3 | Desarrollar cursos de capacitación y actualización, en la Ciudad de Buenos Aires y el Interior del País.
- 4 | Cada 2 años, organiza en los años pares el Congreso Nacional Bioquímico y en los años impares, las Jornadas de Actualización ABA.
- 5 | En su sede tiene un aula docente de 30 asientos y un moderno laboratorio de trabajos prácticos.
- 6 | Asimismo, la Asociación ha implementado el Programa de Certificación Bioquímica, mediante el cual se puede acceder a los Certificados de Especialista, y de Actualización en una determinada especialidad o en Bioquímica Clínica.
- 7 | En la Asociación funcionan además, diferentes Comisiones Internas y las Divisiones / Secciones, encabezadas por prestigiosos profesionales, para asesorar a la Comisión Directiva y a sus socios.
- 8 | La ABA tiene convenios de cooperación institucional con universidades nacionales, privadas y fundaciones científicas de prestigio.

Los socios de la ABA gozan de aranceles preferenciales en cualquier actividad que desarrolla la Institución y reciben la Revista ByPC sin cargo adicional.

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



Para asociarse, debe hacernos llegar esta solicitud completa en letra clara de imprenta y sin omitir ningún dato. Adjuntar una foto carnet, una fotocopia del título (anverso y reverso, tamaño 10 x 15 cm) y -de elegir este sistema de pago- el formulario de ingreso al sistema de débito automático por tarjeta de crédito VISA o MASTERCARD (\$45/mes). En su defecto deberá abonar un año por adelantado (\$540/año)

En el caso que usted optara por el pago anual, puede hacerlo en efectivo en nuestra secretaría o mediante cheque y/o giro postal a la orden de "Asociación Bioquímica Argentina", completo, sin abreviaturas.

Apellido y Nombre .....

D.N.I. – L.C. – L.E. – C.I. ....

Fecha de Nacimiento .....

Domicilio .....

Localidad ..... C.P. ....

Provincia ..... País .....

Teléfono ..... e-mail .....

Título profesional ..... Otorgado por .....

Año ..... Nro. Matrícula .....

Lugar de trabajo .....

Domicilio .....

Teléfono ..... e-mail .....

### INFORMES

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina Venezuela 1823 Piso 3  
1096 – Ciudad de Buenos Aires. e-mail: info@aba-online.org.ar.  
TELEFAX (011)4384-7415 - TEL: (011) 4381-2907

Horario: Lunes a Viernes de 15:00 a 19:00 Hs.