



ASOCIACIÓN
BIOQUÍMICA
ARGENTINA

ByPC

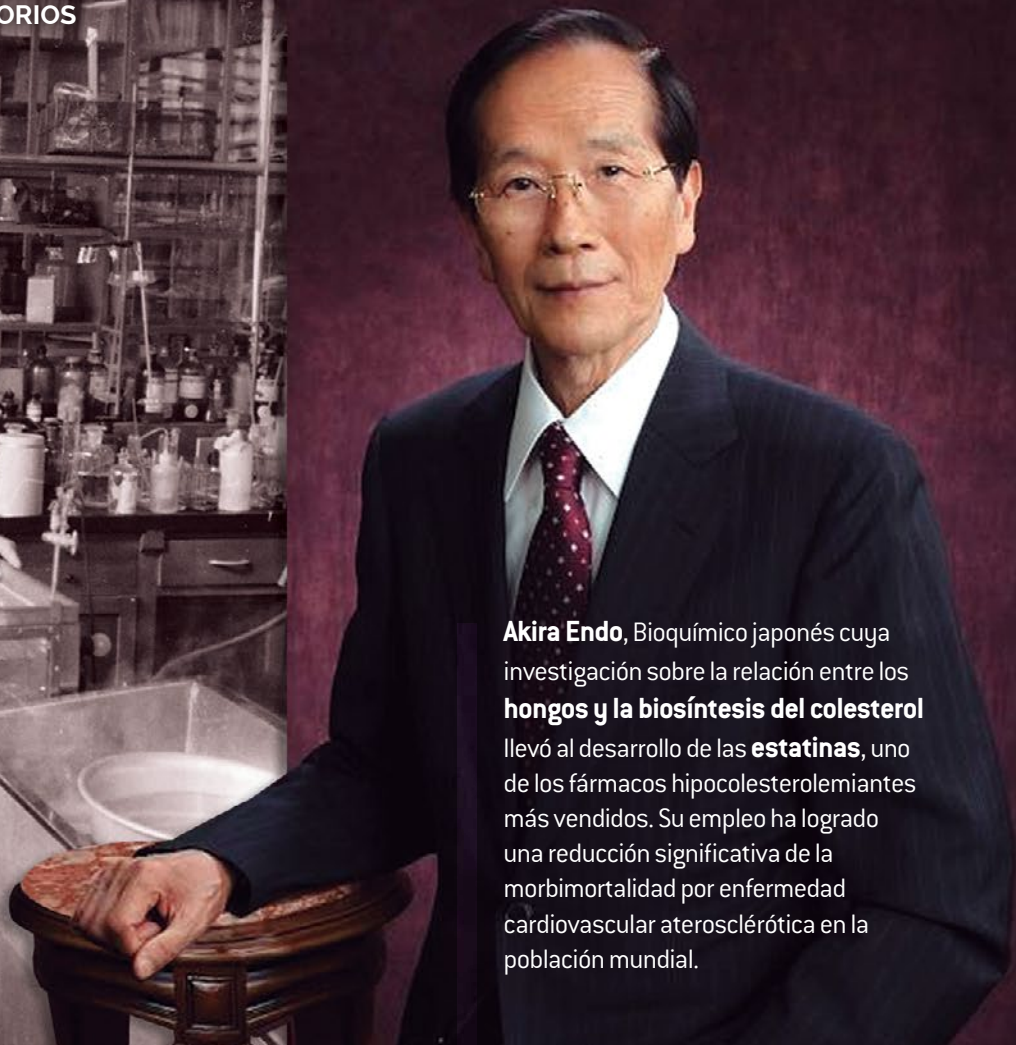
Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación
Bioquímica Argentina

Vol. 87 - Nº2
May.-Ago. de 2023

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

Serie de fotos de tapa
**CIENTÍFICOS DESTACADOS DE LA
HISTORIA EN SUS LABORATORIOS**



Akira Endo, Bioquímico japonés cuya investigación sobre la relación entre los **hongos y la biosíntesis del colesterol** llevó al desarrollo de las **estatinas**, uno de los fármacos hipocolesterolemiantes más vendidos. Su empleo ha logrado una reducción significativa de la morbilidad por enfermedad cardiovascular aterosclerótica en la población mundial.

EDITORIAL

Pág. 20 **Aspectos sociales de nuestra profesión.***Social aspects of our profession.*

Prof. Dra. Ana Inés González.

ARTÍCULO ORIGINAL

Pág. 21 **Anticuerpos heterófilos como interferentes en la determinación de autoanticuerpos por inmunofluorescencia indirecta.***Heterophilic antibodies as interfering agents in the determination of autoantibodies by indirect immunofluorescence.*

Carballo, Orlando Gabriel; Ingenito, Fernanda Beatriz; Saporitti, Paula; Yamamoto, Leticia.

Pág. 26 **Evaluación de la performance de 4 kits comerciales de testeo rápido antigénico de SARS COV-2 en el diagnóstico de COVID-19.***Evaluation of the performance of kits for rapid antigen testing of SARS-CoV-2 in COVID-19 diagnosis.*

Martin Charaf, María Sol; Fontana, Camila; Marchissio, Anisa; Cañellas Martínez, Nuria Belén; Theaux, Clara; Notaristéfano, Guillermo; Torres, Federico; Aranda, Claudio.

Pág. 32 **Diagnóstico microbiológico de infecciones por Clostridioides difficile: estudio comparativo de diferentes métodos.***Microbiological diagnosis of Clostridioides difficile infections: comparative study of different methods.*

Azula, Natalia; Ruggeri, Diego; Wisner, Barbara; Rellosó, Silvia; Romano, Vanesa; Videla, Cristina; Castelli, Edgardo; Farace, María Isabel; Smayevsky, Jorgelina.

Pág. 36 **Índice neutrófilo - linfocito como marcador pronóstico de enfermedad grave por SARS-CoV-2.***Neutrophil-lymphocyte index as a prognostic biochemical marker of severe SARS-CoV-2 disease*

Pastor, Rita Andrea; Collino, Cesar Juan Gerardo.

Pág. 43 **Evaluación de factores de riesgo cardiometabólico en embarazadas, niños y adolescentes de una población patagónica argentina.***Evaluation of cardiometabolic risk factors in pregnant women, children and adolescents in an Argentine Patagonian population.*

Ponce, Graciela Mabel; García, Jorge Alberto; Quezada, Andrés Orlando; Rodríguez María Alejandra.

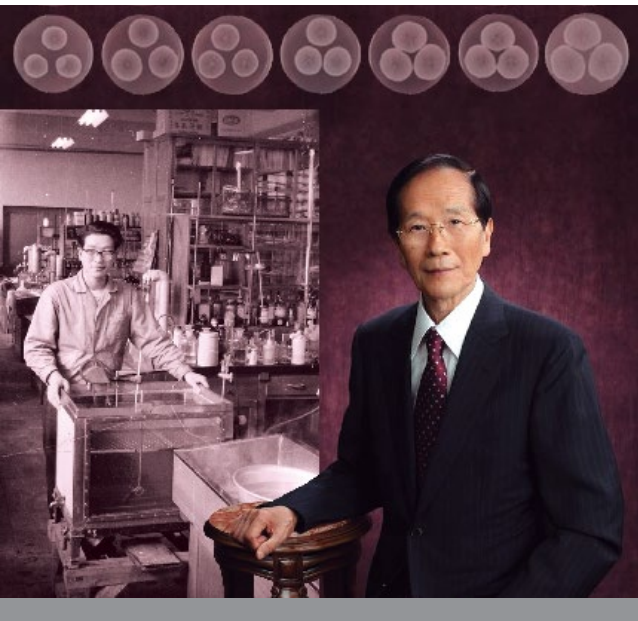
REVISIÓN

Pág. 55 **Biología aplicada al diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Avances en biofármacos, bioterapias y biomarcadores. Parte 2.***Biotechnology applied to the diagnosis and treatment of osteoporosis. Advances in biopharmaceuticals, biotherapies and biomarkers. Part 2.*

Carlucci, Adriana Mónica; Bentivegna, Silvina; Fracalossi Martínez, Ornella; Pedernera, Santiago; Scibilia, María Agustina; Tamburini Glas, Florencia; Sterin Prync, Aída Edith.

PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

Pág. 67 Cursos A.B.A - Ciclo Lectivo 2023.



Derecha: Prof. Dr. Akira Endo

Izquierda: Akira Endo en el laboratorio de la Sankyo Chemical Company en Tokio, durante sus años como investigador.

TAPA

Akira Endo (Japón, 14/11/1933)

Bioquímico japonés cuya investigación sobre la relación entre los hongos y la biosíntesis del colesterol llevó al desarrollo de las estatinas, que son algunos de los fármacos más vendidos de la historia. De hecho, las estatinas se encuentran entre los hipocolesterolemiantes más eficaces y su empleo ha logrado conducir a una reducción significativa de la morbilidad por enfermedad cardiovascular aterosclerótica en la población mundial.

Nacido el 14 de noviembre de 1933 en una granja en el norte de Japón, el Dr. Endo desarrolló un especial interés por el estudio de los hongos. En 1957, se graduó en la Universidad de Tohoku (Facultad de Agricultura), en Sendai, Japón, y se unió a Sankyo Chemical Company en Tokio como científico investigador. Sus investigaciones se centraron en enzimas fúngicas que digieren macromoléculas como la pectina, las cuales causan un aspecto turbio en jugos de frutas y vinos. En su primer año en Sankyo, aisló una enzima muy efectiva del moho de un parásito de la uva que rápidamente se convirtió en un producto con éxito comercial. Luego, pudo continuar sus estudios formales en la Universidad de Tohoku donde obtuvo su doctorado en bioquímica en 1966. Más tarde, realizó un postdoctorado de 2 años en el Albert Einstein College of Medicine en Nueva York, EEUU, donde estudió el papel de los fosfolípidos en la función de las enzimas implicadas en la síntesis de la pared celular bacteriana.

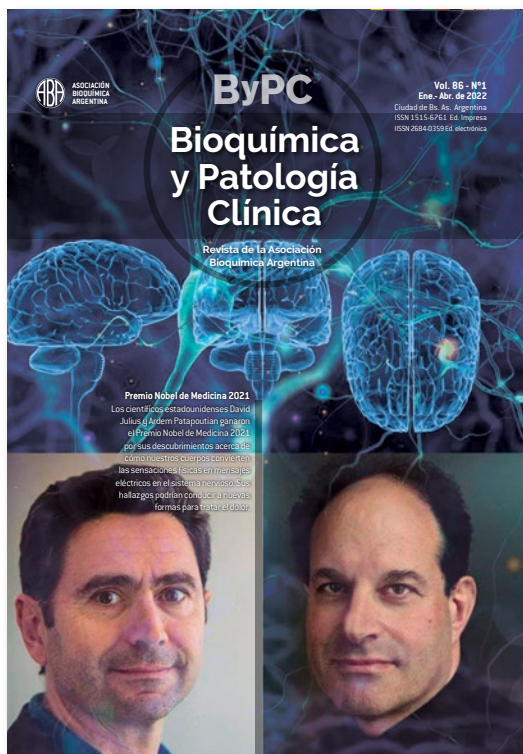
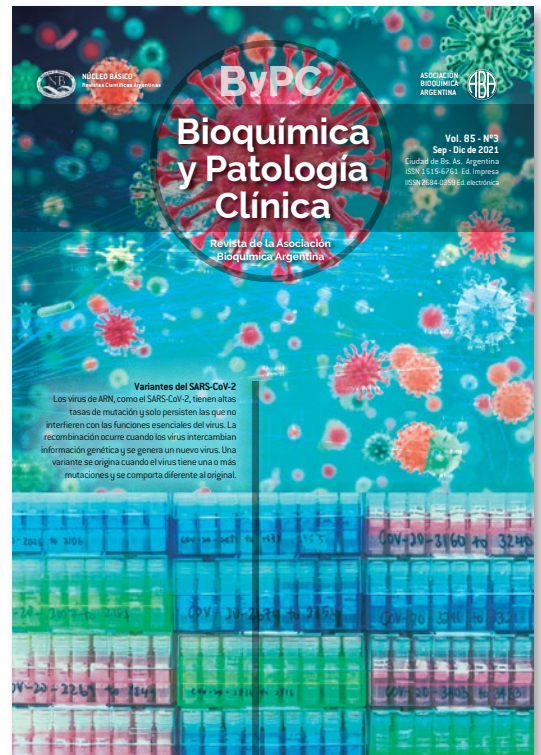
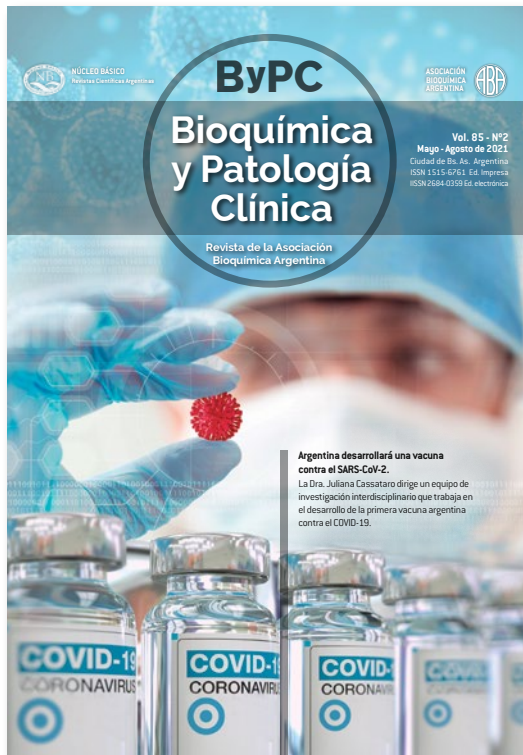
A su regreso a Japón en 1968, Sankyo le permitió elegir su propia área de investigación. De esta manera, en compañía de sus colaboradores Masao Kurada y Kasuhiko Tanzawa, iniciaron las investigaciones tomando como antecedente el descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming. El estudio se inició con la hipótesis de que algunos microorganismos producían de manera natural bloqueadores de la enzima hidroximetilglutaril-Coenzima A reductasa (HMG-CoA), enzima clave en la biosíntesis del colesterol, adquiriendo así la facilidad para librarse de otros microorganismos que estuvieran en la vecindad. Después de cultivar cerca de 5.000 especies de hongos, en 1972 los investigadores consiguieron obtener y purificar una sustancia producida por el Peni-

cillium citrinum semejante a la HMG-CoA en sus características estructurales y que resultó ser un inhibidor competitivo muy activo de la reductasa, impidiendo así la formación de mevalonato. A esta sustancia se le denominó compactita o mevastatina, y de inmediato se realizaron tanto los estudios experimentales como las pruebas clínicas que confirmaron el efecto reductor de la síntesis de colesterol.

Mientras tanto, en 1974, Michael S. Brown y Joseph M. Goldstein demostraron que los hepatocitos poseen receptores específicos en la membrana celular que capturan las moléculas circulantes de LDL y así almacenan este colesterol esencial para procesos vitales. Este conocimiento se amplió al disponer de las estatinas y demostrar que su administración se acompañaba de una mayor producción de receptores de LDL, como reflejo de la necesidad de la célula para incorporar colesterol, ya que su síntesis había sido inhibida. Este proceso lleva a mayor captación de partículas de LDL por parte del hígado y, consecuentemente, a una reducción de sus niveles circulantes, impidiendo así su pasaje a la íntima arterial y la formación de la placa ateromatosa. Es decir, se logró una manipulación farmacológica en la que las estatinas actuaban benéficamente sobre el metabolismo del colesterol, con lo que podría prevenirse la aterosclerosis y la enfermedad cardiovascular, reduciendo la mortalidad. Estudios posteriores demostraron que las estatinas también poseían otros efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular, más allá de su efecto hipocolesterolemizante, denominados efectos pleiotrópicos, y que incluyen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, de protección del endotelio vascular, de regulación el tono vascular y de mantenimiento del equilibrio de la coagulación, entre otros.

En el año 1985, Goldstein y Brown fueron acreedores del Premio Nobel de Medicina por su trabajo fundacional sobre la regulación del metabolismo del colesterol mediado por la vía celular dependiente del receptor de LDL y sostuvieron:

“Los millones de personas cuyas vidas se prolongarán a través de la terapia con estatinas se lo deben todo a Akira Endo y su búsqueda a través de extractos de hongos en Sankyo Co.”



COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente: Dra. Silvia B. González
Vicepresidente: Dra. Patricia Otero
Secretaría: 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
Secretaría: Dra. Florencia Minotti
Vocales: Dr. Eduardo Mormandi
Dra. Fabrina Capece

Certificación

Presidente: Dr. Alberto Villagra
Secretaría: Dra. Viviana Osta
Vocal: Dra. María José Rial

Cursos

Presidente: Dra. Silvia González
Secretaría: 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 Aixelá
Dr. Gloria Alvarez
Dra. Liliana Arias
Dra. Alicia Blanco
Dr. Orlando Gabriel Carballo
Dra. Silvia González
Dr. César Colino
Dr. Eduardo Mormandi
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
Dr. Miguel Angel De Cristófano

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.

Secretaria Científica:

Dra. Fabrina Capece

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

Comité Editorial:

Dr. Orlando Gabriel Carballo

Laboratorio Rossi. 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.

Asesores:

ESPAÑA

Aresio Plaza Lopez
Luis García de Guadiana Romualdo
Pablo Daniel Lapunzina Badía
EEUU
Carlos Alberto von Mühlen
CHILE
Carlos Calvo Monfil,
URUGUAY
Dora Ruchanzky
Fernando Antúnez
MÉXICO
Ignacio García de la Torre
PARAGUAY
M. Montserrat Blanes González

ARGENTINA

Adriana Factorovich
Alejandra Scaziotta
Alejandra Ginaca
Alberto Lazarowski
Alberto Villagra
Alicia Arechabala
Alicia Blanco
Angela Famiglietti
Belén Bouzas
Carlos Vay
Cesar Collino
Claudia Ayuso
Claudia Menghi
Daniel Bustos
Eduardo Mormandi
Fernando Goldbaum
Gabriel Migliarino
Gabriela Mendeluk
Gabriela Santiso
Gloria Cerrone

Graciela Ponce
Graciela Ramos
Jorge Guarlerik
Jorge Rey
José Margariños
Laura Boero
Leticia Madalena
María José Rial
M. Laura D´Ambrosio
Marta Martinuzzi
Monica Aixelá
Nestor Litwin
Nilda Fink
Nora Slobodianik
Patricia Otero
Patricia Sorroche
Sara Kauffman
Silvia González
Stella Carchio
Viviana Osta

Corrección de estilo:

Lic. Débora Schmer Miranda (Español)
Lic. María Victoria González Eusevi (Inglés)

Secretarios administrativos:

Sr. Gastón Goldberg
Sr. Jorge Signorelli

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

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma 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

- a) Artículos originales.
- b) Casos clínicos.
- c) Revisiones.
- d) Cartas al Editor.
- e) Informes.
- f) 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:

- a) El título que debe ser conciso pero informativo.
- b) 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^{1*}; Benítez, Laura²; Romero, Mario³].
- c) 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].
- d) 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:

- a) 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.

- b) 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:

- a) Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.
- b) 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*.
- c) 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:

- a) 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.
- b) 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 descritos 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.
- c) 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, Nacirharhan 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, Sikie 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), Office 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..].



REVISTA BIOQUÍMICA Y PATOLOGÍA CLÍNICA

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		
Título				
¿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?				
Introducción				
¿Están bien resumidos los antecedentes del tema de estudio y son pertinentes al mismo?				
¿Está claramente definido el objetivo principal?				
Materiales y métodos				
¿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?				
Resultados				
¿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?				
Discusión				
¿Los resultados son adecuadamente discutidos?				
¿Se confrontan con referencias actualizadas de otros autores pertinentes?				
¿Existen errores de cálculo, interpretación u omisión?				
Conclusiones				
¿Las conclusiones se soportan en los datos obtenidos?				
¿Son correctas y acordes al objetivo planteado para este estudio?				
Referencias bibliográficas				
¿Se mencionan completamente todas las referencias bibliográficas citadas en el trabajo?				
¿Se consignan con el formato establecido para la revista?				
Modificaciones sugeridas y recomendaciones para el/los autor/es				
Comentarios exclusivos para el editor				
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

Laboratorio Rossi. Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 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 or 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 Ophthalmol 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 ± 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
Title		
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?		
Introduction		
Are the background of the study topic well summarized and relevant to it?		
Is the main objective clearly defined?		
Materials and methods		
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?		
Results		
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?		
Discussion		
Are the results adequately discussed?		
Are they confronted with updated references from other relevant authors?		
Are there errors in calculation, interpretation or omission?		
Conclusions		
Are the conclusions supported by the data obtained?		
Are they correct and consistent with the objective set for this study?		
Bibliographic references		
Are all bibliographic references cited in the work fully mentioned?		
Are they reported in the format established for the magazine?		

Aspectos sociales de nuestra profesión

Desde el año 2019 la carrera de Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires cuenta con la asignatura Práctica Social Educativa. Cabe aclarar que introducir el abordaje de contenidos sociales en estudiantes habituados al uso de un lenguaje técnico disciplinar, asociado con fórmulas, mecanismos de reacción y ciclos biológicos, constituyó un desafío.

Para encarar tamaño reto, contábamos con un trabajo de voluntariado de más de 10 años. ¿Cuál es la diferencia entre una Práctica Social y un Voluntariado? Ambas constituyen formas de educación experiencial y tienen un fuerte componente de servicio a la comunidad sostenido en el tiempo, bajo una instancia institucional, sin embargo, la Práctica Social Educativa, al estar curricularizada, guarda relación directa con los contenidos de estudio.

Al promover la participación de los estudiantes en actividades de vinculación comunitaria directa, estas prácticas permiten fortalecer competencias disciplinares, capacitándolos con herramientas específicas y favoreciendo la aplicación de conocimientos adquiridos en la formación universitaria, cumpliendo un rol en la prevención y control de enfermedades, comprometiéndose en la búsqueda de soluciones a problemas concretos, que les permiten obtener nuevos saberes, y a su vez contribuir a mejorar la calidad de vida de la comunidad.

Además, se ponen en juego habilidades sociales de escucha empática y comunicación efectiva, en contacto con pacientes. Estos aspectos se trabajan con antelación en las aulas, brindando técnicas para la realización de entrevistas, fomentando la retroalimentación, mostrando comprensión, utilizando el parafraseo, controlando las interrupciones al interlocutor, siendo asertivo y resaltando la importancia de los mensajes verbales y no verbales.

Las actividades se llevan a cabo a través de la ejecución de proyectos sociales aprobados y financiados por la Universidad y planificados con la participación de referentes comunitarios (religiosos, directivos de escuelas, responsables de comedores y centros barriales). Las tareas en territorio se realizan en barrios con vulnerabilidad social y difícil acceso al sistema de salud.

El trabajo en común entre docentes y estudiantes permite desarrollar una relación diferente a la establecida en una situación de aula, asemejándose a una relación entre pares. Durante las intervenciones, se favorece también el intercambio con estudiantes y docentes de otras carreras de la UBA, a través de equipos interdisciplinarios.

La observación docente constante permite corregir errores en el desempeño de cada estudiante en forma continua y resolver las consultas o dudas, de manera inminente. Ade-

más, como parte de la evaluación, cada estudiante debe realizar una bitácora de trabajo consignando su participación en las distintas actividades, donde registre un resumen de las tareas y las reflexiones personales sobre sus implicancias. El impacto social es inmediato. En poblaciones sin controles de salud periódicos, el hallazgo precoz de alteraciones brinda la oportunidad de la práctica de prevención primaria, mejorando su estado de bienestar.

Un ejemplo de Práctica Social Educativa es la detección de factores de riesgo cardiovascular y diabetes en población urbana vulnerable, en la cual, en una primera intervención comunitaria tras la firma del consentimiento informado, se llevan a cabo la anamnesis, toma de medidas antropométricas y de muestras de sangre, las cuales se procesan en el laboratorio. Se realiza la validación de resultados y la discusión de cada caso. En una siguiente intervención se efectúa la entrega de resultados con recomendaciones sobre conductas higiénico-dietéticas y la importancia de un control de salud periódico. Luego se lleva a cabo una base de datos, brindando nociones de un estudio epidemiológico.

El aporte del proyecto a la comunidad es el conocimiento del estado de salud en procura de lograr una mejora en la calidad de vida. La divulgación de los factores de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular, obesidad y diabetes, permite identificar precozmente en quiénes aplicar intervenciones clínicas para contribuir a evitar el aumento alarmante de estas patologías, tanto en los individuos que acceden al estudio como en su entorno familiar.

De esta manera, a la vez que se aporta desde un servicio comunitario al bien social, en los estudiantes se fortalece su educación en valores en el ejercicio de la ciudadanía y se profundizan los conceptos teóricos aprendidos en el desarrollo del Ciclo Profesional de la Carrera de Bioquímica. Se busca lograr así, la adquisición de mayor destreza, competencias y habilidades prácticas en el trabajo analítico en el laboratorio, tanto como la obtención de herramientas comunicacionales y en tareas de investigación, que sin dudas contribuirán a un mejor desenvolvimiento profesional en el futuro.

Prof. Dra. Ana Inés González
Departamento Bioquímica Clínica
Fac. Farmacia y Bioquímica, UBA.

ARTÍCULO ORIGINAL

Anticuerpos heterófilos como interferentes en la determinación de autoanticuerpos por inmunofluorescencia indirecta

Heterophilic antibodies as interfering agents in the determination of autoantibodies by indirect immunofluorescence

Carballo, Orlando Gabriel^{1,2}; Ingenito, Fernanda Beatriz¹; Saporitti, Paula²; Yamamoto, Leticia².

¹Laboratorio de Inmunología, Hospital Carlos G. Durand. Buenos, Argentina.

²Laboratorio Central Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Carballo, Orlando Gabriel. Estados Unidos 3826, CABA, Argentina; ogcarballo@gmail.com; gcarballo@cdrossi.com.

Resumen

Introducción: Los anticuerpos heterófilos (AH) están dirigidos contra antígenos de otra especie. Estos anticuerpos pueden mimetizar autoanticuerpos específicos y llevar a errores diagnósticos en el estudio por inmunofluorescencia indirecta (IFI). **Objetivos:** Destacar la importancia de reconocer las imágenes características de los AH y analizar la incidencia de los mismos en muestras de pacientes que asisten a laboratorios hospitalarios. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio observacional, longitudinal, prospectivo y analítico donde se evaluó la presencia de AH en suero, en 2 cohortes de pacientes que ingresaron de manera consecutiva para el estudio de anticuerpos específicos en dos hospitales de la Ciudad de Buenos Aires (n = 661). Se utilizó la técnica de IFI sobre cortes de hígado, riñón y estómago de rata. **Resultados:** La incidencia de los AE fue mayor que la de los AH (19,2 % vs 10,1 %), APCA, ASMA, AMA (6,8/6,2/5,7 %, respectivamente), y LKM (0,4 %) fue el de menor incidencia. No se encontró concomitancia entre AH y AE en las dos cohortes estudiadas. Se observaron los siguientes patrones de AE: ribete en cepillo (RC): 7,1 %, células parietales (CP): 5,6 % y músculo liso (ML): 3,2 %, células de Kupffer (CK): 0,4 %. Se describe la presencia de más de un patrón de AE por paciente. **Conclusiones:** Si bien la frecuencia de AE es mayor que la de AH, estos últimos estuvieron presentes en el 10,1 % de los pacientes incluso hasta con 3 patrones característicos concomitantemente. Es de suma importancia que el observador esté entrenado para distinguirlos, ya que podrían mimetizar los AE y llevar a una interpretación errónea de los resultados.

Palabras clave: autoanticuerpos, heterófilos, inmunofluorescencia indirecta.

Abstract

Introduction: Heterophilic antibodies (HA) are directed against antigens from another species. These antibodies can mimic specific autoantibodies, leading to diagnostic errors in the study by indirect immunofluorescence (IIF). **Objectives:** To highlight the importance of recognizing the characteristic images of HA and to analyze their incidence in samples from patients attending hospital laboratories. **Materials and methods:** An observational, longitudinal, prospective and analytical study was carried out. The presence of HA in serum was evaluated in two cohorts of patients, who had been admitted consecutively for the study of specific antibodies in two hospitals in the City of Buenos Aires (n=661). The IIF technique was used on rat liver, kidney and stomach sections. **Results:** The incidence of specific antibodies was higher than that of HA (19.2 % vs 10.1 %), APCA (6.8), ASMA, (6.2) AMA (5.7 %) and LKM (0.4 %). No concomitance between HA and specific antibodies was found in the two cohorts studied. Among the characteristic patterns of HA, the coloration of the brush border was 7.1 %, parietal cells 5.6 % and smooth muscle 3.2 %, and Kupffer cells 0.4 %. **Conclusions:** Although the frequency of specific antibodies was higher than that of HA, the latter were present in 10.1 % of the patients and with up to three concomitant characteristic patterns. Thus, it is of utmost importance that the observer is trained to identify HA, since they could mimic specific antibodies and this could lead to misinterpretation of the results.

Keywords: Autoantibodies. Heterophile. Indirect Immunofluorescence.

Introducción

El término *anticuerpos heterófilos* (AH) [del griego, *hetero*: diferente y *filo*: afinidad] es usado para describir anticuerpos humanos dirigidos contra antígenos de origen animal más que contra antígenos humanos. Estos anticuerpos interfieren en muchas determinaciones del laboratorio. *The Taber's Medical Dictionary* los define como anticuerpos en respuesta a cualquier antígeno distinto del específico¹. Por lo tanto, una definición un poco más completa sería que los AH reaccionan con antígenos xenoespecíficos y aloespecíficos más que con antígenos de tejidos específicos.²

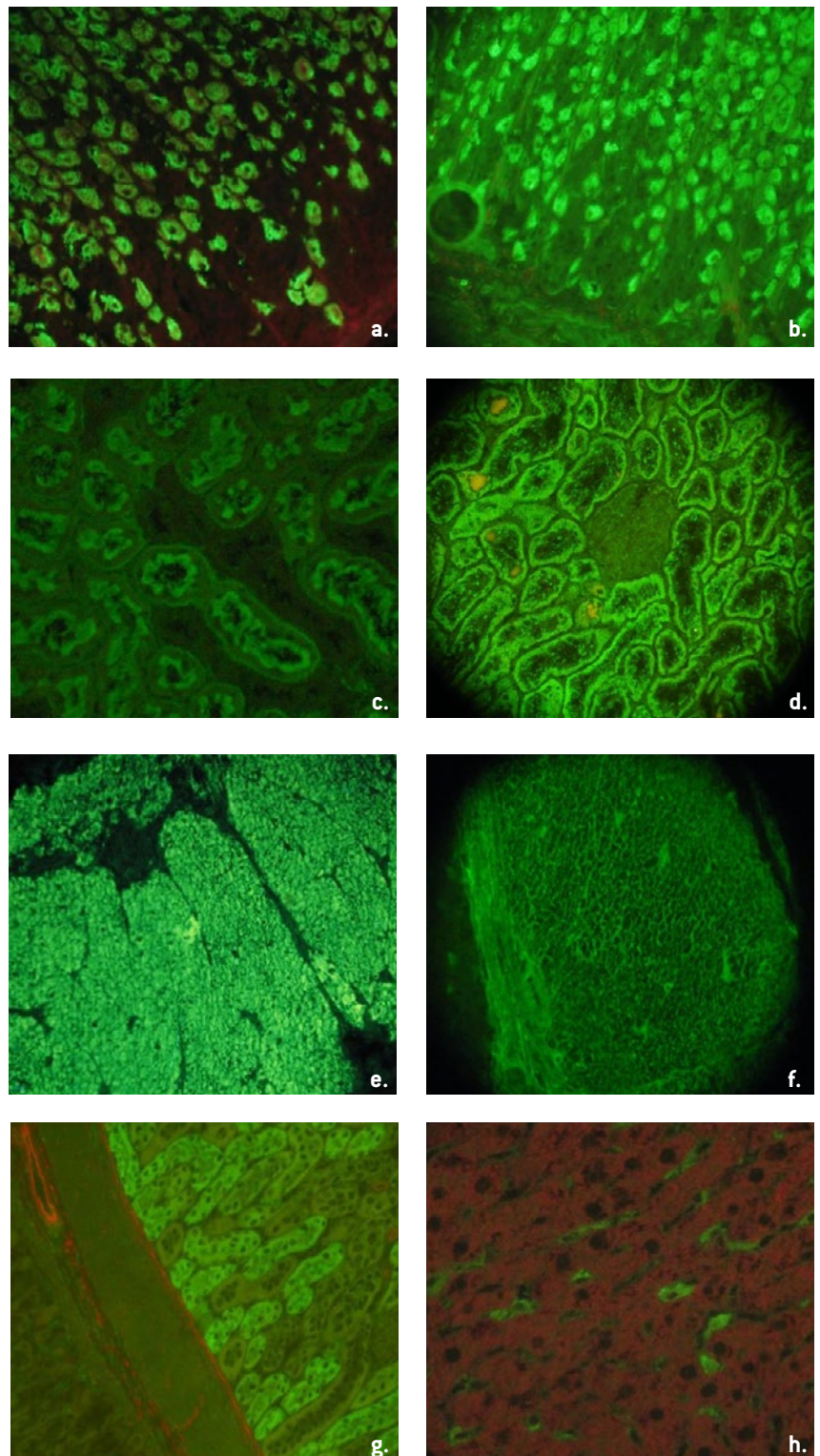
En la práctica clínica diaria, durante la investigación de autoanticuerpos, tales como los antimitocondriales (AMA), antimúsculo liso (ASMA), anticélulas parietales (APCA) y antimicrosomales de hígado y riñón (anti-LKM) [Foto 1: a, c, e y g] por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), utilizando como sustrato cortes criostáticos de hígado, riñón y estómago de rata, la presencia de AH pueden guiarnos a una interpretación errónea del resultado. Resultados falsos positivos pueden ser encontrados cuando los AH reaccionan con células parietales del estómago (CP) o ribete en cepillo (RC) de los túbulos renales, contra estructuras intersticiales presentes en el músculo liso (ML) del estómago de la rata o contra células de Kupffer (CK) en el hígado [Foto: b, d, f y h] mimetizando los patrones específicos antes mencionados.²⁻⁵

El objetivo del presente trabajo es destacar la importancia de reconocer los patrones inespecíficos de los sueros con AH para evitar interpretaciones erróneas en la investigación de autoanticuerpos por inmunofluorescencia y asimismo, reportar la incidencia de los AH, en comparación con la presencia de anticuerpos específicos (AE) en los sueros recibidos para el estudio de autoanticuerpos mencionados anteriormente.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional,

Foto 1. Cortes criostáticos de 5 µm de espesor, de hígado, riñón y estómago de rata [400X]



► a) anticuerpos anticélulas parietales gástricas positivos; b) tinción de las células parietales de las glándulas del estómago por anticuerpos heterófilos; c) anticuerpos antimitocondriales; d) tinción de ribete en cepillo de anticuerpos heterófilos; e) anticuerpos antimúsculo liso; f) AH que tiñen las células de Kupffer; g) anticuerpos anti-LKM; h) anticuerpos heterófilos en músculo liso del estómago.

Tabla I. Presencia de anticuerpos específicos

Ac Esp	APCA	ASMA	AMA	LKM	Total Esp	n
HIBA	30 (8,8 %)	29 (8,6 %)	22 (6,5 %)	2 (0,6 %)	83 (24 %)	338
HD	15 (4,7 %)	12 (3,7 %)	16 (5 %)	1 (0,3 %)	44 (13,7 %)	321
Total	45 (6,8 %)	41 (6,2 %)	38 (5,7 %)	3 (0,4 %)	127 (19,2 %)	661

► APCA, anticuerpos anticélulas parietales; ASMA, anticuerpos antimúsculo liso; AMA, anticuerpos antimitocondriales; LKM, anticuerpos antimicrosomales del hígado y el riñón; Ac Esp, anticuerpos específicos; HIBA, Hospital Italiano de Buenos Aires; HD, Hospital Durand; Total Esp, anticuerpos específicos totales.

longitudinal, prospectivo y analítico en dos hospitales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, de manera simultánea. Se analizaron 661 muestras consecutivas, recibidas 338 en el Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA) y 323 en el Hospital Carlos G. Durand (HD) para el estudio de AMA, ASMA, anti-LKM, y se consignó, además, la presencia de AH.

La técnica de IFI se realizó de manera convencional, utilizando como sustrato cortes criostáticos de hígado, riñón y estómago de rata (BioSystems™). Como segundo anticuerpo, marcado con isotiocianato de fluoresceína, se usó un anticuerpo anti-IgG humana de cabra (Biocientífica®). Se incubaron sobre el sustrato, en cámara húmeda, diluciones del suero (1:40) en *buffer* fosfato (PBS) durante 30 minutos. Posteriormente, se realizaron un lavado rápido y dos lavados con PBS de 5 minutos. Seguidamente, el suero se incubó 30 minutos con anti-IgG humana, marcada con isotiocianato de fluoresceína, en dilución apropiada; nuevamente se realizaron un lavado rápido y 2 lavados de 5 minutos con PBS. Las improntas se cubrieron con líquido de montaje y un cubreobjeto y fueron observadas en el microscopio con aumento 400x por dos operadores independientes.

Para analizar las diferencias proporcionales en los resultados encontrados en los dos centros, se utilizó la prueba de χ^2 y se consideraron significativos los resultados cuando se obtuvo una $p < 0,05$.

Resultados

Se analizaron 661 muestras totales: 338, en HIBA y 323, en HD. El 19,2 % (HIBA 24 % - HD 13,2 %) de las muestras estudiadas mostraron un patrón específico positivo (Tabla I). Los patrones más frecuentemente encontrados fueron:

APCA (6,8 %), ASMA (6,2 %) y AMA (5,7 %) (Figura 1). El anticuerpo anti-LKM fue encontrado solamente en un 0,4 % (HIBA 0,6 % - HD 0,3 %) (Figura 1) (Tabla I). El total de AH hallados fue de 10,1 % (8 % HIBA y 12,5 % HD). No se identificaron anticuerpos heterófilos concomitantemente con la presencia de anticuerpos específicos (Figura 2). El patrón de AH más comúnmente hallado en el total de las muestras estudiadas fue el RC (7,1 %) seguido por CP (5,6 %), ML (3,2 %) y, por último, CK (0,4 %) (Tabla II). El RC se encuentra en el 70,1 % de las muestras que presentan positividad para AH, seguido por CP (55,2 %), ML (31,3 %), y, por último, CK (4,5 %) (Figura 3). Cabe destacar que el patrón que tiñe las CK se presentó en el 0,4 % de las muestras y siempre estaba acompañado por tinción de las CP del estómago y RC de los túbulos. En el 68,4 % de los casos los AH del tipo CP estaban acompañados por la tinción en RC. En este mismo sentido, cuando la tinción de ML estaba presente, en el 100 % de los casos, estaba acompañada por RC y en el 72 % de las veces, además, se observaba tinción en CP.

Discusión

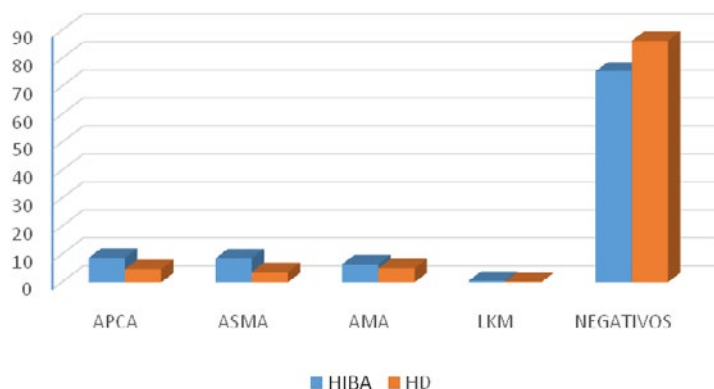
El 19,2 % de las muestras estudiadas presentaron anticuerpos específicos (HIBA: 24 % - HD: 13,7 %) Esta diferencia entre los dos centros, uno privado y el otro público, se puede deber a la diversidad en las poblaciones que asisten a cada centro. (Tabla I). Se observaron diferencias significativas en APCA ($p = 0,0338$) y en ASMA ($p = 0,0081$) y no significativas en AMA ($p = 0,4026$) y LKM ($p = 0,5604$). (Figura 1). El 10,1 % de los sueros recibidos para estudio de autoanticuerpos fue positivo para AH, con representación de distintos patrones de tinción característicos, que hay

Tabla II. Presencia de anticuerpos heterófilos

AH	CP	RC	ML	CK	AH (pos)	AH totales	n
HIBA	18 (5,3 %)	17 (5 %)	6 (1,8 %)	2 (0,6 %)	27 (8,0 %)	43 (12,7 %)	338
HD	19 (5,9 %)	30 (9,3 %)	15 (4,7 %)	1 (0,3 %)	40 (12,5 %)	65 (2,2 %)	321
Total	37 (5,6 %)	47 (7,1 %)	21 (3,2 %)	3 (0,4 %)	67 (10,1 %)	108 (16,3 %)	661

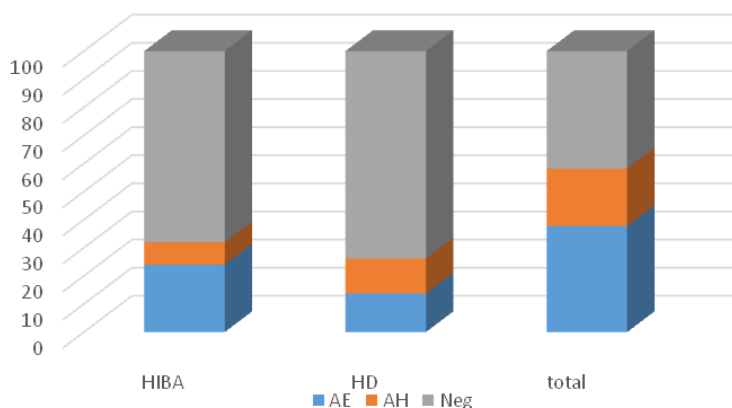
► CP, células parietales; RC, ribete en cepillo; ML, músculo liso; CK, células de Kupffer; AH, anticuerpos heterófilos; AH (pos), muestras positivas para AH; AH totales, suma de todos los AH encontrados; HIBA, Hospital Italiano de Buenos Aires; HD, Hospital Durand.

Figura 1. Distribución porcentual de anticuerpos específicos.



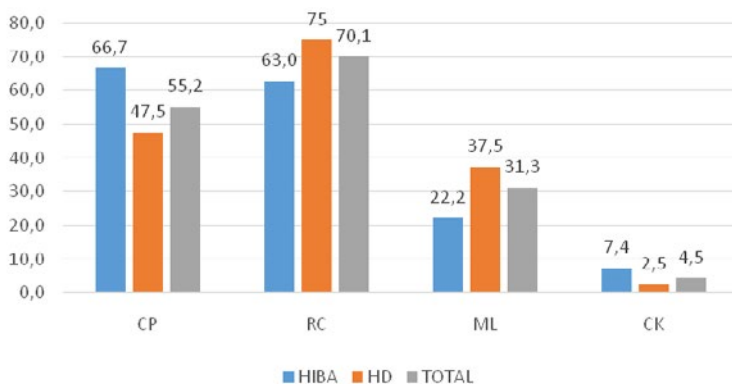
▶ APCA, anticuerpos anti células parietales; ASMA, anticuerpos anti-músculo liso; AMA, anticuerpos anti-mitocondriales; LKM, anticuerpos antimicrosomales del hígado y el riñón; HIBA, Hospital Italiano; HD, Hospital Durand.

Figura 2. Distribución porcentual de anticuerpos heterófilos.



▶ AE, anticuerpos específicos; AH, anticuerpos heterófilos; HIBA, Hospital Italiano; HD, Hospital Durand; Total, corresponde al porcentaje total de muestras positivas y negativas totales de los 2 centros.

Figura 3. Distribución porcentual de patrones de anticuerpos heterófilos.



▶ CP, células parietales; RC, ribete en cepillo; ML, músculo liso; CK, células de Kupffer; AH, anticuerpos heterófilos; Total, corresponde al porcentaje del patrón en el total de muestras con presencia de anticuerpos heterófilos; HIBA, Hospital Italiano; HD, Hospital Durand.

que tener en consideración cuando se están estudiando autoanticuerpos. En nuestra serie de pacientes, fue hallado AH en un porcentaje similar al publicado y puede ser mayor en muestras de individuos con historias de aloinmunización.^{5,6}

Se obtuvieron diferencias significativas entre los dos centros en presencia de AH ($p = 0,0011$), principalmente para ML ($p = 0,0350$) y para RC ($p = 0,0318$), mientras que no se encontraron diferencias significativas para CP ($p = 0,7578$) y para CK ($p = 0,5672$). (Tabla II). Estas divergencias probablemente se deban a que las poblaciones que asisten a los dos centros pueden ser diferentes, ya que estos anticuerpos se encuentran aumentados en poblaciones con mayor exposición a antígenos, mujeres multíparas o por transfusiones de sangre, en el caso de la aloinmunización. Solo fue investigada la presencia del isotipo IgG de los AH. Según la literatura, en todos los casos, estos anticuerpos son del isotipo IgG y, generalmente, de baja avidéz, con actividad multiespecífica. Por otro lado, en el estudio de autoanticuerpos en enfermedades hepáticas y gastrointestinales, los anticuerpos de isotipo IgG son más relevantes y específicos para el diagnóstico que los otros isotipos.^{5,7}

El 3,2 % de las muestras estudiadas mostró una coloración tanto en ML del estómago como de endomisio, que también se puede observar en cortes de corazón de rata.⁵ Los patrones más comúnmente encontrados en nuestra serie fueron los de CP [5,6 %] y RC [7,1 %]. Estos anticuerpos, que fueron caracterizados por Hawkins et al. en 1977, dificultan la interpretación de los patrones de fluorescencia específicos cuando están presentes, ya que pueden enmascararlos y generar resultados falsos negativos.⁵ Por otro lado, los AH podrían interpretarse como el patrón del anticuerpo de tejido específico, al generar resultados falsos positivos.^{5,8,11} En ninguno de los sueros estudiados, se pudo verificar la presencia de AE cuando estaban presentes los AH. Sin embargo, Scott-Mor-

gan et al. encontraron que el 19 % de los sueros previamente estudiados, en los que no se había detectado la presencia de autoanticuerpos, era positivo después de la eliminación de los AH por técnicas de absorción, si bien solo el 4 % tenía títulos significativos como para ser informados.¹¹

La importancia de este estudio radica en que el patrón que muestran los AH positivos en el hígado podría ser interpretado o confundirse con los anticuerpos antireticulina, los AH que tiñen las CP con APCA o incluso con la reacción positiva que se ve en las CP cuando un AMA está presente. De la misma manera, los AH que tiñen el RC pueden confundirse con AMA y los que colorean el ML, con ASMA. (Foto 1).¹²⁻¹⁴ La interferencia positiva de estos anticuerpos podría evitarse utilizando tejidos de ratón o tejido humano como sustrato.¹⁰ Sin embargo, si bien los AH no reaccionarían con las CP o RC en tejido de ratón³⁻⁵, este presenta antígenos heterófilos en el músculo del estómago, que podrían guiar a falsos positivos en ASMA. Por otro lado, la utilización de tejido humano no parece ser una buena elección debido a la necesidad de contar con un laboratorio que pueda procesar este tipo de tejido y hacer las preparaciones. Asimismo, el tejido humano puede presentar aloantígenos de tejidos no específicos que pueden reaccionar con isohemaglutininas presentes en el suero en estudio. Por último, el tejido de rata permite una más fácil manipulación, mayor rendimiento y menor costo. Este tipo de tejidos son los más comúnmente usados en el estudio de anticuerpos de utilidad diagnóstica, por lo que advertimos extremar el cuidado en la interpretación de imágenes obtenidas cuando los AH están presentes para evitar así errores de interpretación que puedan conducir a un diagnóstico equivocado.^{10,15,16} Coincidiendo con la literatura,¹⁷ en las muestras estudiadas, los AH fueron encontrados en elevada frecuencia (10,1 %) y hasta con 3 patrones característicos concomitantemente. Por lo tanto, es de suma importancia que el observador esté entrenado para distinguirlos, ya que podrían mimetizar los AE y llevar a una interpretación errónea de los resultados.

Conflictos de interés

Los/as autores/as declaran no poseer conflictos de intereses.

Referencias bibliográficas

1. Taber's cyclopedic medical dictionary. Philadelphia, PA: FA Davis, 1989:826. <https://fadavispt.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=174264026&bookid=2132#174264112>
2. Dawkins RL, Stephen C, Pummer B, Romano G, Frueger B, Peter N et al. Heterophile Antibodies. In JB Peter and Y Shoenfeld Editors. Autoantibodies, 1th ed. Netherlands. Elsevier 1996. P351-356.
3. Ireton HJ, Muller HK, McGiven AR. Human antibody against rat gastric parietal cells and kidney brush border. Clin Exp Immunol. 1971;8(5):783-9.
4. Strickland RG, Hooper B. The parietal cell heteroantibody in human sera: prevalence in a normal population and relationship to parietal cell autoantibody. Pathology. 1972;4(4):259-63.
5. Hawkins BR, McDonald BL, Dawkins RL. Characterization of immunofluorescent heterophile antibodies which may be confused with

- autoantibodies. J Clin Pathol. 1977;30(4):299-307.
6. McDonald BL, Hawkins BR, Dawkins RL, Davey MG. Characterization of human heterophile antibodies apparently induced by alloimmunization. Vox Sang. 1977;33(3):143-9.
7. Kaplan SS Levinson. When is a heterophile antibody not a heterophile antibody? When is it an antibody against a specific immunogen. Clin Chem. 1999;45(5):616-18
8. Van Der Geld H. Anti-Heart Antibodies in The Postpericardiotomy and The Postmyocardial-Infarction Syndromes. Lancet. 1964;2(7360):617-21.
9. Ireton HJ, Muller HK, McGiven AR. Human antibody against rat gastric parietal cells and kidney brush border. Clin Exp Immunol. 1971;8(5):783-9.
10. Strickland RG, Hooper B. The parietal cell heteroantibody in human sera: prevalence in a normal population and relationship to parietal cell autoantibody. Pathology. 1972;4(4):259-63.
11. Scott-Morgan L y Lloyd RS. Problems associated with the presence of immunofluorescent heterophile antibody in sera submitted for autoantibody screening. J Immunol. Met. 1984;66:69-74.
12. Rizzetto M, Doniach D. Types of 'reticulín' antibodies detected in human sera by immunofluorescence. J Clin Pathol. 1973;26(11):841-51.
13. Doniach D, Roitt IM, Walker JG, Sherlock S. Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implications. Clin Exp Immunol. 1966;1(3):237-62.
14. Johnson GD, Holborow EJ, Glynn LE. Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. Lancet. 1965;2(7418):878-9.
15. Muller HK, McGiven AR, Nairn RC. Immunofluorescent staining of rat gastric parietal cells by human antibody unrelated to pernicious anaemia. J Clin Pathol. 1971;24(1):13-4.
16. Strickland RG, Hooper B. The parietal cell heteroantibody in human sera: Prevalence in a normal population and relationship to parietal cell autoantibody. Pathology. 1972;4:259-63.
17. Hawkins BR, Saueracker GC, Dawkins RL, Davey MG, O'Connor KJ. Population Study of Heterophile Antibodies. Vox Sang 1980; 39: 339-342

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de la performance de 4 kits comerciales de testeo rápido antigénico de SARS COV-2 en el diagnóstico de COVID-19

*Evaluation of the performance of kits for rapid antigen testing of SARS-CoV-2 in COVID-19 diagnosis*Martin Charaf, María Sol^{1*}; Fontana, Camila¹; Marchissio, Anisa¹; Cañellas Martínez, Nuria Belén¹; Theaux, Clara¹; Notaristéfano, Guillermo¹; Torres, Federico¹; Aranda, Claudio¹.¹División Laboratorio, Departamento de diagnóstico y tratamiento, Hospital General de Agudos "Carlos G. Durand". CABA, Argentina.

*Contacto: María Sol Martin Charaf, Hospital General de Agudos "Carlos G. Durand", Avenida Díaz Vélez 5044, C1405DCS, CABA,; solcharaf@gmail.com

Resumen

Introducción: En el contexto de la pandemia causada por SARS-CoV-2, uno de los puntos fundamentales para controlar la transmisión viral fue el diagnóstico precoz. Por ello, se comercializaron diferentes kits de diagnóstico rápido como el test de antígeno en hisopado nasal o nasofaríngeo. Objetivos: Evaluar el desempeño analítico de cuatro kits de testeo rápido de antígeno de SARS-CoV-2, comparándolos con la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (RT-qPCR) como método de referencia. Materiales y métodos: Se analizaron los resultados de cuatro kits de test rápido de antígeno realizados en muestras de hisopado nasal o nasofaríngeo, de acuerdo con el kit, de pacientes que concurren a la Unidad Febril de Urgencia del Hospital Durand entre julio de 2021 y febrero de 2022, comparándolos con los resultados obtenidos simultáneamente por RT-qPCR en hisopado nasofaríngeo. Resultados: En su totalidad, fueron analizadas 13735 muestras. Se obtuvieron los siguientes valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo, respectivamente, para: Panbio™ COVID-19 Ag Abbott hisopado nasofaríngeo: 56,41 %, 99,92 %, 98,60 % y 95,65 %; Panbio™ COVID-19 Ag Abbott hisopado nasal: 65,20 %, 100 %, 100 % y 98,80 %; COVID-19; Juschek hisopado nasal: 77,89 %, 99,30 %, 93,09 % y 97,39 %; GeneFinder™ COVID-19 Ag Plus hisopado nasofaríngeo: 78,21 %, 99,57 %, 97,90 % y 100 %. Conclusiones: Los cuatro kits evaluados tienen una *performance* similar, con resultados óptimos de especificidad, valor predictivo positivo y negativo. La sensibilidad en la población evaluada es menor que la reportada por los fabricantes y presenta diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes kits.

Palabras clave: COVID-19, infección por SARS-CoV-2, transmisión, diagnóstico precoz.

Abstract

Introduction: In the context of the pandemic caused by SARS-CoV-2, one of the key points to control disease spread was early diagnosis. Thus, several rapid diagnostic kits, such as nasopharyngeal and nasal antigen tests, were commercialized. Objectives: To evaluate the performance of four SARS-CoV-2 rapid antigen test kits, comparing them with the Real-time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction [RT-qPCR], as the gold standard method. Materials and methods: Results from four rapid test kits performed on nasal or nasopharyngeal swabs from patients who attended the Febrile Urgent Unit of Durand Hospital (Buenos Aires, Argentina) between July 2021 and February 2022 were analyzed and compared with RT-qPCR in nasopharyngeal swabs. Results: A total of 13735 samples were analyzed. The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values of each test were as follows: Panbio™ COVID-19 ANTÍGENO ABBOTT in nasopharyngeal swab: 56.41%, 99.92%, 98.60% and 95.65% respectively; Panbio™ COVID-19 ANTÍGENO ABBOTT in nasal swab: 65.20%, 100%, 100% and 98.80% respectively; COVID-19 Juschek in nasal swab: 77.89%, 99.30%, 93.09% and 97.39% respectively; and GeneFinder™ COVID-19 Ag Plus in nasopharyngeal swab: 78.21%, 99.57%, 97.90% and 100% respectively. Conclusions: The performances for the four kits were similar and had optimal specificity, and positive and negative predictive values. The sensitivity values in the study group were lower than the ones specified by the manufacturer with statistically significant differences.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2 infection, transmission, early diagnosis.

Introducción

Los coronavirus son un grupo diverso de virus envueltos con un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo, que pertenecen a la familia *Coronaviridae*. En diciembre de 2019, surgió en la población humana un nuevo betacoronavirus, el SARS-CoV-2 (coronavirus-2 del síndrome respiratorio agudo severo), responsable de la enfermedad COVID-19. Debido a la alta transmisibilidad y rápida propagación global de este virus¹, la Organización Mundial de la Salud declaró la pandemia de COVID-19 en marzo de 2020. Su cuadro clínico comprende un amplio conjunto de signos y síntomas que van desde fiebre, tos, odinofagia, cefalea, mialgia, diarrea/vómitos, rinitis/congestión nasal y/o disgeusia/anosmia hasta cuadros más graves con neumonía y dificultad respiratoria con necesidad de hospitalización y riesgo de muerte². El diagnóstico precoz se tornó clave para el rápido aislamiento de aquellos individuos infectados, con el objetivo de reducir la transmisión persona-persona³.

La definición de *caso sospechoso* requiere como primer criterio la presencia de 2 o más síntomas determinados, sin otra causa o etiología aparente, o 1 síntoma, para grupos considerados de alto riesgo. A lo largo del tiempo, fueron incorporándose síntomas a la definición hasta llegar al listado descrito anteriormente; se incorporó la pérdida de gusto/olfato como posible único síntoma, y se consideraron como grupos de alto riesgo el personal esencial y personas que habitan en barrios populares, entre otros^{4,5}.

Para el diagnóstico de COVID-19, el método de referencia es la detección del ácido ribonucleico (ARN) viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (RT-qPCR). A fin de lograrlo, se dispone de diversos kits comerciales y se requiere de un laboratorio de complejidad media - alta y personal profesional capacitado. El tiempo de respuesta de RT-qPCR puede variar entre 12 - 72 horas, según la capacidad operativa de la institución, que incluye desde el pre procesamiento de la

muestra y el tiempo analítico de la propia RT-qPCR hasta la ulterior digitalización de los resultados. Para aumentar la capacidad operativa con técnicas de menor complejidad y diagnóstico rápido, se incorporó a la práctica diaria el test rápido de antígeno de SARS-CoV-2. Estos tests son tradicionalmente utilizados para tamizaje, por lo que deben tener una alta sensibilidad, bajo porcentaje de falsos negativos y alto valor predictivo negativo, con el objetivo de detectar rápidamente la mayor cantidad posible de individuos infectados, favorecer la búsqueda oportuna de contactos y así disminuir la propagación viral. Son inmunoensayos cromatográficos que, generalmente, tienen un principio de detección de tipo sándwich en un formato de ensayo de flujo lateral que permiten la detección cualitativa de proteínas virales⁶ y pueden presentar tres resultados posibles: positivo (banda que indica la presencia de antígeno de SARS-CoV-2 y banda correspondiente al control interno), negativo (solo se observa la banda correspondiente al control interno) o inválido (cuando no se observa banda control). Estos tests se utilizan como *point of care testing* (POCT) en las Unidades Febriles de Urgencia (UFU) de los hospitales públicos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, desde enero de 2021. El tiempo analítico es de aproximadamente 30 minutos, con tiempos de entrega de resultados positivos de 2 a 3 horas, por lo que se cumple el principal objetivo, que es el diagnóstico rápido. Los resultados negativos se confirmaron por RT-qPCR, según el algoritmo de GCBA, hasta marzo de 2022⁷.

Desde su implementación en enero de 2021, el Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires proveyó de insumos a los diferentes hospitales, cambiando de kits según su disponibilidad en Argentina y su adjudicación por licitaciones públicas. Esto hizo necesaria la rápida evaluación de cada nuevo kit disponible. Por otro lado, los datos aportados por los respectivos fabricantes indican que los resultados positivos correlacionan con RT-qPCR detectables con *Ct* (*cycle threshold* o ciclo umbral) menores que 25, entendiéndose

Tabla I. Cantidad de test de antígeno totales, positivos, negativos e inválidos realizados con cada kit y resultados de las RT-qPCR correspondientes a cada grupo.

Muestra	Test	TA Realizados (N)	TA Positivos (N) (%)	TA Negativos (N) (%)	TA Inválidos (%)	Falsos positivos (%)	Falsos negativos (%)
HNF	Panbio™ COVID-19 Ag Abbott	1238	23 (1,86 %)	1215 (98,14 %)	0 (0 %)	1 (4,35 %)	17 (1,40 %)
	GeneFinder™ COVID-19 Ag Plus	878	143 (16,29 %)	735 (83,71 %)	0 (0 %)	3 (2,1 %)	39 (5,3 %)
HN	Panbio™ COVID-19 Ag Abbott	8869	197 (2,22 %)	8643 (97,45 %)	29 (0,33 %)	0 (0 %)	103 (1,19 %)
	Test rápido de antígeno COVID-19 Juschek	2750	246 (8,95 %)	2494 (90,69 %)	10 (0,36 %)	18 (7,32 %)	66 (2,65 %)

► TA, test de antígeno; HNF, hisopado nasofaríngeo; HN, hisopado nasal.

Tabla II. Valores obtenidos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y sus respectivos intervalos de confianza del 95% para cada kit, en comparación con el método de referencia (RT-qPCR).

Test	Sensibilidad % (IC%)	Especificidad % (IC%)	Valor predictivo positivo % (IC%)	Valor predictivo negativo % (IC%)
Panbio™ COVID-19 Ag Abbott HNF	56,41 (40,85-71,97)	99,92 (99,75-100,08)	95,65 (87,32-103,99)	98,60 (97,94-99,26)
GeneFinder™ COVID-19 Ag Plus	78,21 (72,16-84,26)	99,57 (99,09-100,06)	97,90 (95,55-100,25)	94,69 (93,07-96,31)
Panbio™ COVID-19 Ag Abbott HN	65,20 (59,78-70,63)	100 (100-100)	100 (100-100)	98,80 (98,58-99,04)
Test rápido de antígeno COVID-19 Juschek	77,55 (72,78-82,32)	99,26 (98,93-99,60)	92,68 (89,43-95,94)	97,35 (96,72-97,98)

► IC, intervalo de confianza; HNF, hisopado nasofaríngeo; HN, hisopado nasal

de forma convencional el Ct como el ciclo a partir del cual la fluorescencia supera el umbral de ruido y tiene una relación inversamente proporcional con la cantidad de ARN *target* presente en la muestra.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la *performance* de cuatro kits de test rápido de antígeno utilizados por el laboratorio del Hospital General de Agudos “Dr. Carlos G. Durand” de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires mediante el análisis de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, utilizando la RT-qPCR como método de referencia. Además, se analizó el porcentaje de falsos negativos y verdaderos positivos para muestras con RT-qPCR con Ct menores que 25.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio analítico, de corte transversal, en diferentes períodos comprendidos entre julio de 2021 y febrero de 2022, en el cual se incluyeron pacientes que ingresaban a la UFU del Hospital Durand por demanda espontánea, que cumplían la definición vigente de *caso sospechoso*, con síntomas leves o moderados. En el período de diciembre a febrero se incluyeron, además, pacientes asintomáticos, según modificaciones en la normativa vigente. A cada paciente, se le tomaron 2 muestras simultáneas, una de hisopado nasal (HN) o nasofaríngeo (HNF) para el test rápido (según el kit disponible en cada momento) y la otra de hisopado nasofaríngeo para la realización de la RT-qPCR. Todos los resultados del test rápido de antígeno, en los períodos evaluados, fueron confirmados por RT-qPCR.

Durante el estudio, se utilizaron cuatro kits de test rápido de antígeno que detectan la nucleoproteína (N) viral, sujetos a la disponibilidad de entrega por parte del Ministerio de Salud del Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. A continuación, se detallan los test rápidos de antígeno utilizados, el tipo de muestra requerida, los períodos en que

fueron evaluados y la sensibilidad (S) y especificidad (E) reportadas por los fabricantes:

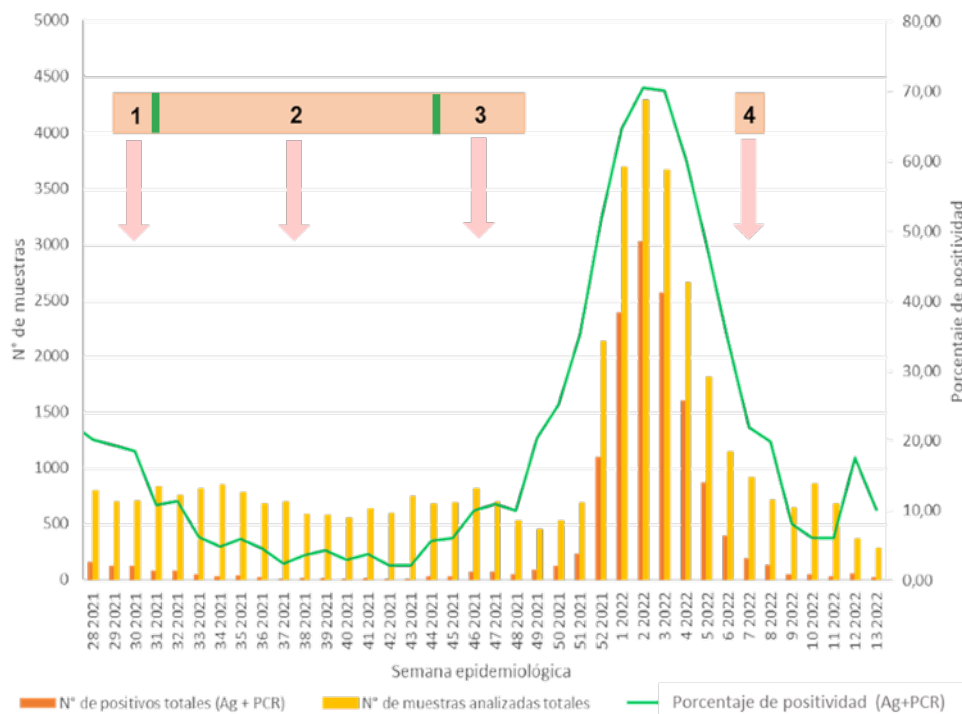
1. Test rápido Panbio™ COVID-19 Ag Abbott en hisopado nasofaríngeo, desde el 31/07/2021 a 11/08/2021 (S 91,40 %; E 99,80 %);
2. Test rápido Panbio™ COVID-19 Ag Abbott en hisopado nasal, del 12/08/2021 al 10/11/2021 (S 91,10 %; E 99,70 %);
3. Test rápido de antígeno COVID-19 Juschek en hisopado nasal, desde el 10/11/2021 al 10/12/2021 (S 93,6 %; E >99,90 %);
4. Test Rápido GeneFinder™ COVID-19 Ag Plus en hisopado nasofaríngeo, desde el 17/02/2022 al 24/02/2022 (S 94,95 %; E 98,00 %).

Paralelamente, se relevó la tasa de positividad diaria de muestras provenientes de la UFU durante todo el período de utilización del algoritmo de test rápido y se confirmó por RT-qPCR.

Se excluyeron del análisis los test rápidos inválidos y los hisopados nasofaríngeos para RT-qPCR que, por distintos motivos, no fueron recibidos o fueron mal remitidos al laboratorio.

Todas las muestras para RT-qPCR fueron analizadas en el Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Durand de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Los kits utilizados para la extracción de ácidos nucleicos de las muestras estudiadas fueron *MPure Viral/Pathogen Nucleic acid extraction Kit B-Mpure System* y *MagaBio Plus virus DNA/RNA extraction kit III-Bioer*, en tanto que para la RT-qPCR se emplearon: *Dis-CoVery SARS-CoV-2 RT-PCR Detection Kit Rox/Cy5*; *WGene SARS-CoV-2 RT Detection*; *SARS-CoV-2 ELITE MGB® Kit* y por último *RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0*. Estos métodos se consideran de desempeño equivalente en estudios previamente publicados por Fellner y col.⁸ y en estudios comparativos realizados en nuestro laboratorio, previa implementación.

Figura 1. Tasa de positividad en la UFU del Hospital “Carlos G. Durand”, según semana epidemiológica y período de evaluación de cada kit de test de antígeno.



► 1, Abbott HNF; 2, Abbott HN; 3, Juschek HN; 4, GeneFinder HNF.

Se llevó a cabo el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para cada kit. El intervalo de confianza se calculó mediante aproximación normal/método asintótico y el análisis de proporción poblacional para muestras grandes. Para comparar globalmente las sensibilidades obtenidas en los diversos kits se utilizó el método de chi cuadrado y para la comparación individual, el test de diferencia de proporciones con la corrección de Bonferroni.

Resultados

En su totalidad, fueron analizadas 13735 muestras de pacientes que comprenden 5661 hombres y 8074 mujeres entre 1 y 99 años de edad. La cantidad de test de antígeno realizados con cada kit y los resultados positivos, negativos e inválidos, así como también los resultados falsos positivos y negativos asociados a cada kit, se resumen en la Tabla I.

En la Figura 1, se muestra el período de evaluación de cada kit de test de antígeno en relación con el número de muestras positivas (sumatoria de test de antígeno y RT-qPCR) y el número de muestras analizadas totales, y la tasa de positividad global de nuestro hospital (sumatoria de test de antígeno y RT-qPCR), en cada semana epidemiológica.

En la Tabla II, se resumen los resultados de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo y sus respectivos intervalos de confianza, del 95 %, para cada kit.

Por otro lado, en la comparación global de sensibilidades, se obtuvo un $p=0,0002$, mientras que en todas las comparaciones individuales el p obtenido fue de $<0,05$.

La Figura 2 muestra la cantidad de falsos negativos y verdaderos positivos obtenidos para los distintos kits de test de antígeno, agrupados de acuerdo con el rango de Ct obtenido en la RT-qPCR. El porcentaje de falsos negativos con Ct menores que 25 fluctuó entre un 9 % y un 12 %. Por otro lado, en relación con los verdaderos positivos de test de antígeno, con Ct mayores que 25, el porcentaje varió entre un 9 % y un 29 %.

Discusión

Los test rápidos evaluados resultaron tener una *performance* comparable, con alta especificidad y óptimos valores predictivos tanto positivo como negativo. Sin embargo, si bien la sensibilidad para la población evaluada en el período de tiempo analizado resultó aceptable, fue menor que la reportada por los fabricantes, con diferencias estadísticamente significativas tanto en forma global como individual, con una probabilidad de error menor de 5 %.

En un metaanálisis realizado por Valentin Parvu y col.⁹, en el que se analizan 83 estudios que comparan la performance del test rápido de antígeno con la RT-qPCR, se observó un amplio grado de heterogeneidad entre los valores de sensibilidad obtenidos en los distintos trabajos, con un promedio de 75 % [71 %-78 %], que se asemeja al obtenido en dos de los cuatro kits analizados en este trabajo (GeneFinder™ COVID-19 Ag Plus y test rápido de antígeno COVID-19 Juschek). No obstante, la sensibilidad de los otros dos kits evaluados (Panbio™ COVID-19 Ag Abbott HN y Panbio™ COVID-19 Ag Abbott HNF) resultó más cercana a 56 %, que es la obtenida en el estudio de Jacqueline Dinnes u col.¹⁰.

Por otra parte, teniendo en cuenta que el personal encargado de la toma de muestras sufrió un alto recambio en el transcurso del tiempo y que, consecuentemente, requerían cierto tiempo de capacitación y práctica, es posible que una de las causas asociadas a la sensibilidad obtenida sea una incorrecta toma de muestras, como también, la heterogeneidad de las muestras respiratorias, lo cual podría favorecer la aparición de resultados falsos negativos en el test de antígeno. El factor de agotamiento del personal, asociado al gran volumen de pacientes atendidos, a las largas jornadas de trabajo y al estrés físico y mental influiría en la etapa pre-analítica y analítica.

A pesar de lo mencionado previamente, si se tuvieran en cuenta solo los resultados de test rápido de antígeno, cuyos Ct por RT-qPCR resultaron menores que 25, el valor de falsos negativos disminuiría notoriamente.

Por otro lado, no se observaron diferencias marcadas en la performance de aquellos test de antígeno que utilizaron como muestras hisopados nasofaríngeos y los que utilizaron hisopados nasales.

Teniendo en cuenta la existencia de distintos tipos de pruebas disponibles para el diagnóstico de COVID-19, es importante resaltar que su interpretación debe ser realizada de acuerdo con el contexto epidemiológico en que son utilizadas. En los distintos períodos de tiempo incluidos en este estudio, la tasa de positividad global del hospital fluctuó entre 4 % y 20 %. Para poder realizar una comparación ópti-

ma, sería ideal poder analizar los distintos kits en un mismo período de tiempo y en las mismas condiciones respecto de la prevalencia de la enfermedad, estacionalidad y cepa circulante predominante. Sin embargo, esto es utópico, ya que una característica de la pandemia por COVID-19 ha sido el alto dinamismo epidemiológico, con surgimiento de nuevas variantes de mayor transmisibilidad. A su vez, la industria biomédica fue incorporando diferentes ensayos a lo largo del tiempo. En ese contexto, la evaluación de cada test rápido *in situ* y en el momento de su incorporación fue valiosa para conocer el comportamiento de los ensayos utilizados.

El uso del test de antígeno fue una herramienta destacada en la pandemia que permitió, por un lado, la toma de decisiones rápidas para el diagnóstico oportuno de COVID-19 y, por otro, descomprimió el trabajo en los laboratorios de Biología Molecular, colaborando, en ciertos períodos de la pandemia, en el control y disminución del flujo de RT-qPCR.

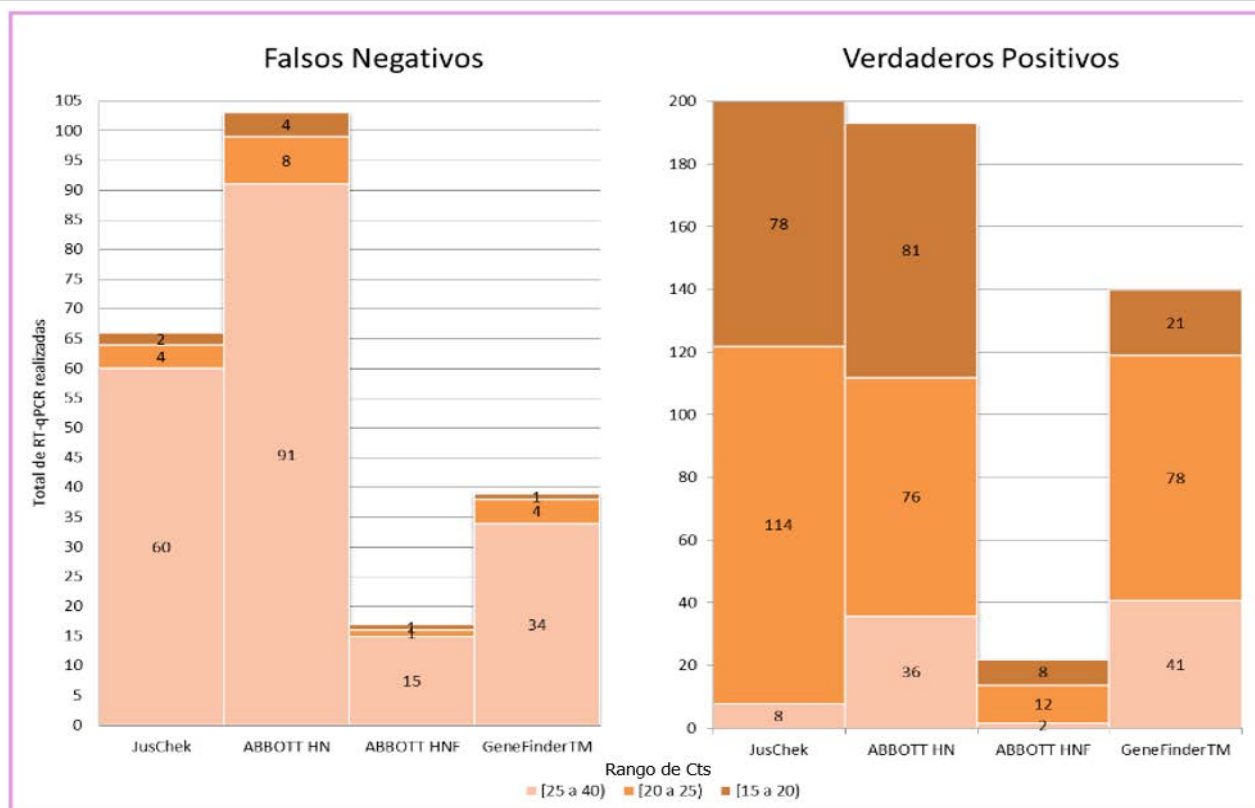
Agradecimientos

Agradecemos a todo el personal del Laboratorio del Hospital General de Agudos “Dr. Carlos G. Durand” y, en especial, al Bioq. Sergio Santiago y a los que forman parte de las áreas de Biología Molecular, Epidemiología y de la Unidad Febril de Urgencia por el apoyo para la realización de este trabajo.

Conflicto de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Figura 2. Falsos negativos y verdaderos positivos agrupados de acuerdo con el rango de Ct obtenido en la RT-qPCR. Ct, *cycle threshold*; HNF, hisopado nasofaríngeo; HN, hisopado nasal.



Referencias bibliográficas

1. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections-More Than Just the Common Cold. *Journal of the American Medical Association*. [internet] 2020. p. 707-8. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2759815>
2. Ministerio de Salud de la Nación [sede web]. Argentina; 2020 [acceso 21 de enero de 2022]. Definiciones y clasificaciones de caso. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/salud/coronavirus/definicion-de-caso>
3. Rearte Analía, Giovacchini Carlos, Voto Carla, Baumeister Elsa, Pifano Marina, Fischerman Laura, et al. Consenso sobre el uso de pruebas diagnósticas para SARS-CoV-2-Versión 2. Ministerio de Salud [internet]. 3 de mayo de 2021. Disponible en: https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2021-06/CONSENSO_Diagnostico_SARS_CoV-2_Actualizacion_Mayo_2021.pdf
4. Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires [sede web]. Protocolo de manejo de casos sospechosos y confirmados COVID-19 en aislamiento en instituciones extrahospitalarias. Mayo 2021. Disponible en: https://www.buenosaires.gob.ar/sites/gcaba/files/id_2ab_-_protocolo_de_manejo_de_casos_sospechosos_y_confirmados_covid-19_en_aislamiento_en_instituciones_extra-hospitalarias_1.pdf
5. Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires [sede web]. Protocolo de manejo de casos sospechosos y confirmados de COVID-19. Versión 49. 30/12/21. Disponible en: https://www.buenosaires.gob.ar/sites/gcaba/files/id_0_-_protocolo_de_manejo_frente_a_casos_sospechosos_y_confirmados_de_covid-19_30.12.pdf
6. Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. Protocolo operativo. Test de antígeno COVID-19. [sede web]. Argentina. 2022. [actualizada 2022; acceso 1 de abril de 2022].
7. Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires. Protocolo operativo-Versión 3. Test de antígeno COVID-19. [sede web]. Argentina. 2021. [actualizada 2022; acceso 23 de diciembre de 2021].
8. Fellner MD, Bonaventura R, Basiletti J, Avaro M, Benedetti E, Campos A, et al. Evaluation of RT-qPCR and Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assays for the Detection of SARS-CoV-2 in Argentina. *Genes (Basel)*. 2021;12(5): 659.
9. Parvu V, Gary DS, Mann J, Lin YC, Mills D, Cooper L, et al. Factors that Influence the Reported Sensitivity of Rapid Antigen Testing for SARS-CoV-2. *Front Microbiol*. 2021;12:714242.
10. Dinnes J, Deeks JJ, Adriano A, Berhane S, Davenport C, Dittrich S, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;8(8):CD013705.

ARTÍCULO ORIGINAL

Diagnóstico microbiológico de infecciones por *Clostridioides difficile*: estudio comparativo de diferentes métodos

Microbiological diagnosis of Clostridioides difficile infections: comparative study of different methods.

Azula, Natalia^{1*}; Ruggeri, Diego²; Wisner, Barbara¹; Rellosó, Silvia¹; Romano, Vanesa¹; Videla, Cristina¹; Castelli, Edgardo²; Farace, María Isabel²; Smayevsky, Jorgelina¹.

¹Laboratorio de Microbiología, Departamento de Análisis Clínicos, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Servicio Bacteriología Sanitaria, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI), Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos G. Malbrán". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Azula, Natalia; Laboratorio de Microbiología, Departamento de Análisis Clínicos, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Galván 4102 [C.P. 1431]; azulanatalia@gmail.com.

Resumen

Introducción: *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) es la principal causa de diarrea asociada a antibióticos. **Objetivos:** El objetivo del presente estudio fue comparar cuatro métodos para la detección de *C. difficile* toxigénico o de sus toxinas, directamente a partir de materia fecal de pacientes internados, con sospecha de infección por *C. difficile*, en el período enero – mayo de 2018. **Materiales y métodos:** Se procesaron 97 muestras de materia fecal diarreica utilizando las siguientes metodologías: 1) cultivo toxigénico; 2) inmunocromatografía (IC), [equipo C. Diff Quick Check Complete™]; 3) PCR en tiempo real (PCR-RT), [kit de TIB Molbiol] y 4) PCR convencional. **Resultados:** Se aisló *C. difficile* toxigénico en 14 de las 97 muestras. La concordancia entre la PCR-RT y la PCR convencional fue de 92,9 % y 100 %, respectivamente, comparada con el cultivo toxigénico. Seis muestras fueron positivas para GDH y Tx (Ag+Tx+) por IC, PCR convencional y cultivo toxigénico. En 15 muestras con GDH positiva y Tx negativa (Ag+Tx-), 7 resultaron positivas en ambas PCR, al igual que el cultivo toxigénico. En 8 muestras Ag+Tx- que presentaban ambas PCR negativas, se aisló *C. difficile* no toxigénico. Usando el cultivo toxigénico como método de referencia, la sensibilidad (S), la especificidad (E), el valor predictivo positivo (VPP) y el negativo (VPN) de los ensayos fueron del 42,9 %, 100 %, 100 %, y 91,2 %, respectivamente, para la detección de toxinas por IC; del 92,9 %, 100 %, 100 % y 98,8 % para la PCR-RT y del 100 %, 100 %, 100 % y 100 % para la PCR convencional. **Conclusión:** Con base en nuestros resultados, la metodología molecular posee S y E superiores a la IC, por lo que frente a resultados inconclusos (Ag+Tx-), recomendamos la realización de un método molecular para llegar al diagnóstico de certeza.

Palabras clave: *Clostridioides difficile*, PCR, inmunocromatografía, cultivo toxigénico, sensibilidad, especificidad.

Abstract

Introduction: *Clostridioides difficile* is the most commonly identified cause of antibiotic-associated diarrhea. **Objectives:** This study aimed to compare the performance of four diagnostic methods on a set of standardized stool samples from patients with suspected *C. difficile* infection during January-May 2018. **Materials and methods:** A total of 97 liquid fecal samples were processed with: 1) toxigenic culture; 2) an immunochromatographic assay using the C. DIFF QUICK CHECK COMPLET kit E for the detection of glutamate dehydrogenase (GDH) and toxins (Tx) A and B; 3) real-time PCR (RT-PCR) using the TIB MOLBIOL kit; and 4) conventional PCR. **Results:** Toxigenic culture allowed isolating *C. difficile* from 14 of the 97 samples. The RT-PCR and conventional PCR had a concordance of 92.9% and 100% with toxigenic culture, respectively. Six samples were positive for GDH and Tx (Ag+Tx+), conventional PCR and toxigenic culture. Seven out of 15 GDH-positive and Tx-negative (Ag+Tx-) samples were positive by both PCRs and toxigenic culture. Non-toxigenic *C. difficile* was isolated from 8 samples (Ag+Tx-) but were negative by PCR. By using toxigenic culture as the "gold standard", the sensitivity (S), specificity (E), and positive and negative predictive values of the assays were 42.9%, 100%, 100%, and 91.2%, respectively, for the immunochromatographic assay; 92.9%, 100%, 100%, and 98.8%, respectively, for the RT-PCR; and 100%, 100%, 100%, and 100%, respectively, for the conventional PCR. **Conclusions:** According to these results, the molecular methods have a S and E higher than the immunochromatographic assay. For inconclusive results (Ag+Tx-), we recommend performing a molecular method for the diagnosis of certainty.

Key words: *Clostridioides difficile*, PCR, immunochromatographic assay, toxigenic culture, sensitivity, specificity.

Introducción

Clostridioides difficile (*C. difficile*) es un bacilo gram - positivo, anaerobio estricto, con capacidad de formar esporas que permiten su supervivencia. La transmisión por vía fecal - oral convierte al personal de salud, instrumental médico y medio ambiente en importantes fuentes de infección intrahospitalaria. *C. difficile* puede ser agente causal de colitis pseudomembranosa y de complicaciones como la colitis fulminante, todas ellas englobadas por la denominación *infecciones por C. difficile* (ICD)¹⁻⁴.

Las cepas toxigénicas de *C. difficile* producen en el nivel colónico una toxina A o enterotoxina y otra B o citotoxina codificadas en los genes *tcdA* y *tcdB*. Ambas tienen efecto citotóxico y causan permeabilidad vascular y hemorragias; además, la enterotoxina induce la acumulación de líquidos y células inflamatorias a través de la activación de la respuesta inflamatoria, mientras que la citotoxina causa destrucción del citoesqueleto del enterocito y es más potente que la primera. Los genes antes mencionados se encuentran ubicados en una región del cromosoma llamada *locus de patogenicidad* (PaLoc), el cual contiene también 3 genes accesorios: *tcdR*, *tcdE*, *tcdC*. El gen *tcdR* ha demostrado tener la capacidad de modular positivamente la expresión de los genes de las toxinas, mientras que el *tcdC* modula negativamente dicha expresión⁴.

La glutamato deshidrogenasa (GDH) es una enzima de la pared del *C. difficile* muy estable, que se produce en grandes cantidades. La detección del antígeno GDH por inmunocromatografía (IC) es una técnica muy sensible, pero tiene el inconveniente de no poseer una buena especificidad por su capacidad de detectar tanto cepas toxigénicas como no toxigénicas de *C. difficile*. La combinación de la detección de las toxinas y GDH mediante IC da lugar a resultados muy específicos, pero la sensibilidad es baja para la detección de las primeras. Si bien estas técnicas poseen un elevado valor predictivo negativo (95-100%), la presencia de la GDH en las cepas no toxigénicas hace que el valor predictivo positivo de su detección sea relativamente bajo (50 - 60%). En estos casos, la decisión médica de aislar y tratar al paciente es más difícil. Por este motivo, los métodos inmunocromatográficos no son recomendables como únicos métodos diagnósticos de ICD⁵⁻⁸.

La alta sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares permiten un diagnóstico rápido y certero de la ICD, pero son costosas y requieren equipamiento específico. Estos inconvenientes han dado lugar al diseño de varios algoritmos diagnósticos que son costo - efectivos. La mayoría de los mismos utiliza como método de cribado la IC y la búsqueda de la enzima GDH debido a su alta sensibilidad diagnóstica y valor predictivo negativo. Según recomendaciones nacionales e internacionales, los resultados discordantes (GDH +/- Toxinas - o GDH -/Toxinas +) deben confirmarse por un método molecular validado^{5,6,8}.

En la mayoría de los centros hospitalarios de la Argentina, el diagnóstico de infección por *C. difficile* se realiza únicamente por IC, con las limitaciones que dicha metodología presenta. Además, son pocos los estudios que comparan distintas metodologías realizadas en Argentina e incluso, en Latinoamérica.

El objetivo del presente estudio fue comparar cuatro dis-

tintas metodologías para la detección de *C. difficile* toxigénico, directamente de la materia fecal: la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT) comercial, la PCR convencional, la inmunocromatografía y el cultivo anaerobio con posterior detección de las toxinas por IC y PCR. El cultivo toxigénico se consideró como método de referencia.

Materiales y Métodos

Se analizaron, en forma prospectiva, muestras consecutivas de materia fecal diarrea de pacientes internados con sospecha de ICD, en el período enero-mayo de 2018. Todas las muestras de materia fecal se procesaron por: inmunocromatografía, PCR en tiempo real, PCR convencional y cultivo toxigénico.

Inmunocromatografía: se utilizó el equipo comercial *C. Diff Quick Check Complete*TM (Techlab, Inc., EE. UU) para la detección de GDH y toxinas A y B. La prueba se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, directamente sobre muestras de materia fecal y luego, sobre los aislados de heces.

PCR en tiempo real: la PCR-RT, cuya detección se basa en la tecnología de sondas de hibridación, se realizó directamente sobre las muestras de materia fecal y sobre los aislados de *C. difficile*. La extracción de ADN se efectuó en el equipo automatizado *MagNA Pure* (Roche Diagnostics). Para la extracción de ADN directamente de la materia fecal, se suspendieron 1 - 2 asadas de 10 µl de materia fecal diarrea en 1 ml de agua bidestilada estéril. Se vortexeó por 1 minuto seguido de una centrifugación a 6000 rpm durante 1 minuto. Se colocaron 410 µl del sobrenadante en el equipo *MagNA Pure* (Roche Diagnostics) para su extracción, adicionando 10 µl del control de extracción. Se usó el kit de extracción y purificación de ácidos nucleicos *MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit*. El protocolo de extracción utilizado fue el *otol NA en plasma*: 100 - 400; el volumen de elución fue de 100 µl. Luego, se realizó la PCR-RT con el kit de detección de *LightMix® Kit Clostridium difficile EC* (TIB Molbiol) en el equipo *Light Cycler 2.0* (LC, Roche Diagnostics), que detecta la presencia del gen *tcdC*, presente en todas las cepas toxigénicas. Este, además, es capaz de detectar probables cepas hipervirulentas, con delección en el gen *tcdC*, analizando las curvas de *melting*⁹⁻¹¹. Los pasos de amplificación y detección del gen *tcdC* se realizaron según las instrucciones del fabricante.

Para la extracción de ADN de aislados se suspendieron 2-3 colonias en 1 ml de agua bidestilada estéril. Se tomaron 410 µl de la suspensión y se adicionaron 10 µl del control de extracción. A continuación, se siguieron los mismos pasos que para el procedimiento directo a partir de materia fecal descripto arriba.

PCR convencional: es una PCR de punto final que se realizó directamente sobre las muestras de materia fecal almacenadas a -20°C y sobre los aislados de *C. difficile*. La extracción y purificación de ADN directamente de materia fecal se realizaron con el kit *QIAamp DNA Stool Mini Kit* (Qiagen, Alemania), a partir de 220 mg de materia fecal, siguiendo las instrucciones del fabricante. Para la extracción de ADN de aislados, se suspendió 1 colonia en 50 µl de agua bidestilada estéril, se calentó a 95°C durante 10 minutos y se centrifugó a 15,000 RPM x g por 2 minutos, tomando el sobrenadante para la realización de la PCR.

Tabla I. Comparación de resultados por distintos métodos para la detección de *C. difficile* toxigénico directo de materia fecal.

97 muestras totales	IC Resultado (N)	Cultivo toxigénico Resultado (N)	PCR-RT Resultado (N)	PCR convencional Resultado (N)
6	Ag+Tx+ (6)	Positivo (6)	Positivo (5)	Positivo (6)
7	Ag+Tx- (7)	Positivo (7)	Positivo (7)	Positivo (7)
1	Ag-Tx- (1)	Positivo (1)	Positivo (1)	Positivo (1)
8	Ag+Tx- (8)	Negativo (8)	Negativo (8)	Negativo (8)
75	Ag-Tx- (75)	Negativo (75)	Negativo (75)	Negativo (75)

► Ag, antígeno glutamato deshidrogenasa; IC, inmunocromatografía; PCR-RT, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; Tx, toxinas.

La PCR se realizó utilizando los cebadores NK104 5'-GTGTAGCA-ATGAAAGTCCAAGTTACGC-3' y NK105 5'-CACTTAGCTCTTTGATTGCT-GCACCT-3', que amplifican un segmento del gen *tcdB*, como se describió previamente¹². El ciclado consistió en 5 minutos de desnaturalización a 94°C, seguidos de 40 ciclos de amplificación de 20 segundos a 94°C, 60 segundos a 62°C y 40 segundos a 74°C, cada uno. Al finalizar los ciclos de amplificación, los tubos se incubaron 5 minutos a 72°C. La PCR se consideró positiva frente a la presencia de un producto de amplificación de 270pb correspondiente a un fragmento del gen *tcdB*. La detección de este fragmento se realizó por electroforesis en gel de agarosa al 2% con GelRed™ (Biotium).

Cultivo toxigénico: previo al cultivo toxigénico, se realizó shock etanólico (igual volumen de materia fecal y etanol absoluto) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego, las muestras de materia fecal tratadas fueron sembradas en el medio selectivo CHROM agar™ *C. difficile* (Mediatec) e incubadas en condiciones anaeróbicas a 37°C por 24h. En dicho medio, las colonias compatibles con *C. difficile* se ven fluorescentes al exponerlas bajo lámpara de luz UV a 365 nm. La identificación de *C. difficile* se realizó por la metodología automatizada MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics) y la detección de toxina, por IC y amba.

Resultados

En el cultivo, se aisló *C. difficile* toxigénico en 14,4% (14/97) de las muestras de materia fecal. La concordancia de la PCR-RT y PCR convencional fue del 92,9% (13/14) y del 100% (14/14) comparada con el cultivo toxigénico, respectivamente. En 2 de las 13 muestras positivas por PCR-RT, se detectó delección en el gen *tcdC*, por análisis de las curvas de *melting*. Seis muestras fueron positivas para GDH y Tx (Ag+Tx+) por PCR convencional

y cultivo toxigénico. De 15 muestras con GDH positiva y toxinas negativas (Ag+Tx-), 7 presentaron ambas PCR y cultivo toxigénico positivos. En 8 muestras con Ag+Tx- y PCR negativas, se aisló *C. difficile* no toxigénico. Todas las muestras negativas por cultivo también lo fueron por las PCR y por IC. Una muestra negativa para GDH y toxinas (Ag-Tx-) resultó positiva por ambas PCR y cultivo toxigénico, pero se la consideró un falso negativo de la IC (Tabla I).

Usando el cultivo toxigénico como método de referencia, la sensibilidad (S), especificidad (E), el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de los ensayos fueron del 42,9 %, 100 %, 100 % y 91,2 %, respectivamente, para la detección de toxinas por IC; del 92,9 %, 100 %, 100 % y 98,8 % para la PCR-RT y del 100 %, 100 %, 100 % y 100 % para la PCR convencional (Tabla II).

Discusión

Aunque las técnicas de detección de toxinas A y/o B mediante inmunoanálisis, tales como la inmunocromatografía o el enzimoimmunoanálisis, son técnicas rápidas, sencillas y de bajo costo, su baja sensibilidad (40 - 60%) las descartan como métodos únicos de diagnóstico de infección por *Clostridioides difficile*^{13,14}.

La detección del antígeno *glutamato deshidrogenasa* mediante IC es una técnica muy sensible, con valores cercanos al 90 %, en comparación con el cultivo toxigénico. Sin embargo, tiene el inconveniente de no tener una buena especificidad por su capacidad de detectar tanto cepas toxigénicas como no toxigénicas de *C. difficile*. En la actualidad, se comercializan inmunocromatografías que detectan simultáneamente GDH y toxinas A y/o B. La combinación de la detección de las toxinas y de la GDH mediante IC da lugar a resultados muy específicos, pero su sen-

Tabla II. Análisis de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de los distintos métodos.

Métodos	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
PCR-RT	92,9	100	100	98,8
PCR convencional	100	100	100	100
IC *	42,9	100	100	91,2

► IC, inmunocromatografía; PCR-RT, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; VPN, valor predictivo negativo; VPP, valor predictivo positivo; * relevamiento de los diferentes parámetros para la detección de toxinas por IC.

sibilidad queda limitada por la técnica menos sensible, es decir, por la detección de las toxinas. En el presente estudio, la sensibilidad de la IC para la detección de toxinas fue baja, del 42,9 %. Estos resultados concuerdan con lo previamente descrito.

Por otro lado, los elevados valores de VPP y VPN obtenidos, superiores al 90%, convierten a esta IC, que combina la detección de GDH y toxinas, en un excelente método de cribado¹⁵⁻¹⁷.

La alta sensibilidad y especificidad de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos de *C. difficile* las convierten en ideales para el diagnóstico rápido de la ICD, pero por su costo elevado y mayor complejidad no están al alcance de la mayoría de los laboratorios. Esta falta de métodos accesibles y eficaces, utilizables como métodos únicos para el diagnóstico rápido de la ICD ha dado lugar al diseño de varios algoritmos diagnósticos que aprovechan lo mejor de cada una de las técnicas que los integran.

La mayoría de los algoritmos diagnósticos utilizan como método de cribado la detección mediante IC de la enzima GDH debido a su alta sensibilidad diagnóstica. Sin embargo, como su especificidad no es buena, se utilizan técnicas confirmatorias para los resultados GDH positivos. De esta forma, los resultados GDH positivos son confirmados por la detección de las toxinas por IC y, en caso de discordancia (Ag+ / Tx-), se utilizan las técnicas moleculares. Los estudios que han evaluado los algoritmos que incluyen inmunocromatografías que detectan las toxinas son capaces de reducir en casi un 50 % el número de pruebas moleculares necesarias, con el consiguiente ahorro en el uso de estas técnicas diagnósticas¹⁵⁻¹⁸.

Algunos métodos de amplificación de ácidos nucleicos, dirigidos al diagnóstico tienen como diana el gen de la toxina B (*tcdB*) o incluso los genes de ambas toxinas. Los métodos basados únicamente en la detección del gen *tcdA* no están aconsejados debido a que pueden no detectar algunas cepas con deleciones en dicho gen. Otros equipos tienen como diana el gen supresor *tcdC*, presente en todas las cepas toxigénicas¹⁹. En el actual estudio se compararon dos PCR diferentes, una PCR en tiempo real y una PCR convencional, a su vez, dirigidas a distintos blancos moleculares. Ambas PCR presentaron resultados de S, E, VPP y VPN superiores al 90 %, por lo que son métodos muy útiles para confirmar y descartar ICD.

Sobre la base de nuestros resultados, podemos concluir que los métodos moleculares poseen una S y E superiores a la IC. A pesar de la baja sensibilidad, la IC sigue siendo muy útil como método de cribado en laboratorios debido al elevado VPN y la rapidez para obtener un resultado. Sin embargo, frente a resultados inconclusos (Ag+Tx-), recomendamos la realización de un método molecular para llegar al diagnóstico de certeza.

Referencias bibliográficas

- Gerding DN. *Clostridium difficile* 30 years on: What has, or has not, changed and why? Int J Antimicrob Agents. 2009; 33(Suppl 1):S2-8.
- Bouza E, Marín M, Peláez T, Alcalá L; Group for Clostridium difficile Infection of the Spanish Society for Chemotherapy. The situation and management of Clostridium difficile infection in Spain: an opinion document. Rev Esp Quimioter. 2013; 26(3):261-86.
- McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakkenet JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults and children: 2017 update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). Clin Infect Dis 2018; 66:e1-48.
- Zea J.W, Salazar C.L. Enfermedad asociada a Clostridium difficile: prevalencia y diagnóstico por laboratorio. Infectio. 2012; 16(4):211-22.
- Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing Clostridium difficile-infection (CDI). Clin Microbiol Infect. 2009; 15: 1053-66.
- Alcalá Hernández L, Marín Arriaza M, Mena Ribas A, Niubó Bosh J. Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), 2015.
- Alcalá L, Reigadas E, Marín M, Martín A, Catalán P, Bouza E. Impact of clinical awareness and diagnostic tests on the underdiagnosis of Clostridium difficile infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015; 34(8):1515-25.
- Alcalá Hernández L, Mena Ribas A, Niubó Bosh J, Marín Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la infección por Clostridium difficile. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2016; 34(9):595-602.
- Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. Comparison of real-time PCR for detection of the tcdC gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. J Clin Microbiol. 2008; 46(6):1996-2001.
- Quesada-Gómez C, Rodríguez C, Gamboa-Coronado Mdel M, Rodríguez-Cavallini E, Du T, Mulvey MR, et al. Emergence of Clostridium difficile NAP1 in Latin America. J Clin Microbiol. 2010; 48(2):669-70.
- Cheng JW, Xiao M, Kudinha T, Xu ZP, Hou X, Sun LY, et al. The First Two Clostridium difficile Ribotype 027/ST1 Isolates Identified in Beijing, China-an Emerging Problem or a Neglected Threat? Sci Rep. 2016; 6:18834.
- Kato H, Kato N, Watanabe K, Iwai N, Nakamura H, Yamamoto T, et al. Identification of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile by PCR. J Clin Microbiol. 1998; 36(8):2178-82.
- Barcán L, Ducatenzeiler L, Bangher MC, Barcelona L, Cornistein W, Daciuk L, et al. Recomendaciones intersociedades para diagnóstico, tratamiento y prevención de las infecciones por Clostridioides difficile. Medicina [B Aires] 2020; 80: 1-32.
- Legaria MC, Rollet R, Di Martino A, Castello L, Barberis C, Rossetti MA, et al. Detection of toxigenic Clostridioides [Clostridium] difficile: Usefulness of two commercially available enzyme immunoassays and a PCR assay on stool samples and stool isolates. Rev Argent Microbiol. 2018; 50(1):36-44.
- Sandlund J, Mills R, Griego-Fullbright C, Wagner A, Estis J, Bartolome A, et al. Laboratory comparison between cell cytotoxicity neutralization assay and ultrasensitive single molecule counting technology for detection of Clostridioides difficile toxins A and B, PCR, enzyme immunoassays, and multistep algorithms. Diagn Microbiol Infect Dis. 2019; 95(1):20-24.
- Schmidt ML, Gilligan PH. Clostridium difficile testing algorithms: what is practical and feasible? Anaerobe. 2009; 15(6):270-3.
- Shin BM, Lee EJ, Moon JW, Lee SY. Evaluation of the VIDAS glutamate dehydrogenase assay for the detection of Clostridium difficile. Anaerobe. 2016 Aug; 40:68-72.
- Kachrimanidou M, Tegou Z, Chasampalioti M, Arvaniti K, Protonotariou E, Skoura L. A two-step approach improves the diagnosis of Clostridium difficile infection. J Microbiol Methods. 2017; 143:17-19.
- Kraft CS, Parrott JS, Cornish NE, Rubinstein ML, Weissfeld AS, McNult P, et al. A Laboratory Medicine Best Practices Systematic Review and Meta-analysis of Nucleic Acid Amplification Tests (NAATs) and Algorithms Including NAATs for the Diagnosis of Clostridioides [Clostridium] difficile in Adults. Clin Microbiol Rev. 2019; 32(3):e00032-18.

ARTÍCULO ORIGINAL

Índice neutrófilo - linfocito como marcador pronóstico de enfermedad grave por SARS-CoV-2.

Neutrophil-lymphocyte index as a prognostic biochemical marker of severe SARS-CoV-2 disease

Pastor, Rita Andrea^{1*}; Collino, Cesar Juan Gerardo^{2,3}

¹Laboratorio, Servicio de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital Comunitario Generalista Evita. Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

²Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

³Servicio de Laboratorio, Hospital G. Rawson. Córdoba, Argentina.

*Contacto: Pastor, Rita Andrea; Laboratorio, Servicio de Diagnóstico y Tratamiento, Hospital Comunitario Generalista Evita; Ferrando y Hugo del Carril n° 2199 C.P.: 6300, Santa Rosa, La Pampa; rita-pastor@hotmail.com.

Resumen

Introducción: La COVID-19 está originada por un betacoronavirus llamado SARS-CoV-2. El 80 % de la población infectada transcurre la enfermedad de manera asintomática o paucisintomática y el 20 % restante puede desarrollar formas graves que requieran servicios de mayor complejidad del sistema de salud. **Objetivo:** Evaluar el índice neutrófilo/linfocito (INL) como marcador bioquímico pronóstico de desarrollo de un cuadro grave de COVID-19. **Materiales y Métodos:** Se utilizó para este trabajo un diseño observacional, retrospectivo, con criterios de inclusión y exclusión. La población de estudio fue de 571 individuos con diagnóstico de COVID-19 confirmado por laboratorio, que cursaron la patología de forma asintomática o leve y presentaron algún criterio de mala evolución clínica. Se tomaron como marcadores de mala evolución la hospitalización de estos pacientes, el requerimiento de asistencia respiratoria mecánica (ARM) y/o muerte. A esta población, se le realizaron determinaciones básicas de laboratorio con la valoración de un hemograma donde el INL se calculó por el cociente del valor absoluto de neutrófilos y linfocitos. El punto de corte elegido fue $INL \geq 3,1$. **Resultado:** En el análisis descriptivo de esta población, se observó que un 25,9 % de las personas requirió algún tipo de internación; un 4,6 % fue trasladado a la Unidad de Terapia Intensiva (UTI) con requerimiento de ARM y un 5,4 % falleció. En estas tres situaciones, se evaluó el comportamiento del INL junto con los antecedentes patológicos personales (APP) de la población y se concluyó que el hecho de poseer un $INL \geq 3,1$ correlaciona con la siguiente probabilidad de ocurrencia de los eventos *internación*: 4,405 veces mayor y *muerte*: 4,982. También se calculó sensibilidad: 92 %; especificidad: 42 %; VPP: 7 % y VPN: 99 %. **Conclusión:** El parámetro INL es un buen marcador pronóstico de enfermedad grave por COVID-19, reproducible, accesible y poco invasivo.

Palabras clave: COVID-19, índice neutrófilo/linfocito (INL), marcador pronóstico.

Abstract

Introduction: COVID-19 is caused by a beta coronavirus called SARS-CoV-2. About 80 % of the infected population is asymptomatic or paucisymptomatic, and the remaining 20 % can develop severe forms that require more complex services of the health system. **Objective:** to evaluate the neutrophil-lymphocyte ratio (NLI) as a prognostic biochemical marker for the development of severe COVID-19. **Materials and Methods:** an observational, retrospective design with inclusion and exclusion criteria was used for this work. The study population consisted of 571 individuals with a laboratory-confirmed diagnosis of COVID-19, who had an asymptomatic or mild pathology and presented some criteria for poor clinical evolution. Hospitalization, requirement of mechanical respiratory assistance (MRA) and/or death were taken as markers of poor evolution of the patients. Basic laboratory determinations were performed on this population with the evaluation of a complete blood count, where the NLI was calculated by the quotient of the absolute value of neutrophils and lymphocytes. The chosen cut-off point was $NLI \geq 3.1$. **Results:** The descriptive analysis of this population showed that 25.9 % of them required some type of hospitalization, 4.6 % were transferred to the intensive care unit (ICU) requiring MRA, and 5.4 % died. In these three situations, the behavior of the NLI and the personal pathological history of the population were evaluated, and results showed that having an $NLI \geq 3.1$ correlates with the following probability of occurrence of events: 4.405 times higher probability of hospitalization; 7.507 times higher probability of being transferred to the ICU and requiring MRA, and 4.982 times higher probability of dying. The results also showed a sensitivity of 92 %; a specificity of 42 %; PPV: 7 %, and NPV: 99 %. **Conclusion:** The NLI is a good prognostic marker of severe COVID-19 disease, being reproducible, accessible and minimally invasive.

Key words: COVID-19, Neutrophil/Lymphocyte Index (NLI), prognostic marker.

Introducción

Etiología de COVID-19

El origen del SARS-CoV-2 se registra en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, China, donde se detectan, por primera vez, casos de neumonía viral. China informó de este brote a la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 31 de diciembre de 2019 y, poco después, identificó el patógeno causante: un betacoronavirus con alta homología de secuencia con los coronavirus (CoV) de los murciélagos, que utilizan la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como mecanismo dominante celular. El virus recibió el nombre de SARS-CoV-2 por su homología genética con el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV), responsable por una epidemia de gran escala en Asia, en 2003. La enfermedad se llamó por su sigla inglesa *COVID-19* (*Coronavirus Disease* identificado en el año 2019). El 11 de marzo de 2020, la OMS declara pandemia la enfermedad COVID-19 y se genera una crisis sanitaria mundial¹.

Fisiopatogenia de la COVID-19

El SARS-CoV-2 se transmite por la vía aérea o por contacto con mucosas, es altamente infeccioso, y los individuos portadores pueden contagiar el virus durante su estado asintomático. Tiene una fase variable de incubación, que oscila entre 3 y 10 días, e inicialmente, se manifiesta con alteraciones respiratorias. Alrededor de un 80 % de los pacientes desarrolla un cuadro paucisintomático o incluso asintomático. El 20 % restante desarrolla un cuadro clínico, caracterizado por una neumonía intersticial bilateral que lleva a cambios respiratorios y un aumento de la respuesta inflamatoria sistémica con marcadores inflamatorios elevados. La mortalidad de los pacientes que desarrollan este cuadro inflamatorio oscila entre un 10 % y un 20 %. La COVID-19 se asocia a otras manifestaciones clínicas menos frecuentes y algo más tardías como fenómenos tromboticos [arteriales o venosos], inflamación cutánea, vasculitis y el desarrollo de fibrosis pulmonar².

El SARS-CoV-2, al igual que los anteriores coronavirus virulentos como el SARS-CoV, parece compartir el mismo mecanismo de reconocimiento celular. La proteína *spike* del coronavirus permite el ingreso del virus a las células objetivo, utilizando como receptor de entrada la ACE2, la cual requiere de la expresión de serina -proteasas transmembrana de tipo II (TMPRSS2), que pueden escindir y activar la proteína *spike* del coronavirus para la fusión de membranas y completar así el proceso de entrada.

Se plantean diferentes mecanismos fisiopatológicos que pueden provocar una lesión multiorgánica secundaria a la infección por SARS-CoV-2: toxicidad viral directa; daño a las células endoteliales; trombo - inflamación; desregulación del sistema renina - angiotensina - aldosterona (RAAS)^{3,4}.

El SARS-CoV-2 tiene tropismo por las vías respiratorias, dada la elevada expresión de ACE2, en múltiples tipos de células epiteliales, incluidas las células epiteliales al-

veolares de tipo II en el parénquima pulmonar. Estudios histopatológicos han informado del organotropismo del SARS-CoV-2 más allá del tracto respiratorio, incluyendo el tropismo a los diferentes tejidos: renales, miocárdico, neurológico, faríngeo y gastrointestinal. Estos hallazgos sugieren que la lesión de múltiples órganos puede producirse debido al daño tisular directo del virus⁵.

Ninguno de los mecanismos fisiopatológicos se manifiesta de forma independiente. El RAAS es el que regula el volumen plasmático y mantiene la homeostasis cardiovascular e hidrosalina a partir del complejo de acción renina/angiotensina (ANG)/ACE/angiotensina II (ANGII) / receptores de ANG tipo 1 y tipo 2 (ATR1, ATR2). La ACE genera ANGI, que es un péptido efector clave que causa vasoconstricción por la "vía clásica" de activación del RAAS. Existe una "vía no clásica" que regula estos efectos de vasoconstricción a través de la ACE2, reduciendo los niveles de ANGI, escindiendo un péptido clasificador ANG (1-7), que puede activar el receptor de ensamblaje mitocondrial (MAS) promoviendo vasodilatación y antiinflamación⁶. También se descubrió que los genes de ACE2/TMPRSS2 son regulados por el factor de necrosis tumoral (TNF) e inducidos por condiciones proinflamatorias como esófago de Barrett, infección gástrica por *H. Pylori*, obesidad, diabetes mellitus (DMT), enfermedades autoinmunes, tabaquismo, enfermedades virales, factores de crecimiento, interferones (IFN) y andrógenos; de esta manera, el SARS-CoV-2 utiliza la sobreexpresión de ACE2 en estas patologías y se asocia a alto riesgo de padecer COVID-19 severa⁵.

En el nivel endotelial, la entrada de SARS-CoV-2 por medio de ACE2 y la posterior inflamación generan un entorno protrombótico, el cual es otro de los mecanismos fisiopatológicos propuestos para COVID-19. La expresión de ACE2 en el endotelio arterial y venoso encontrada en estudios histopatológicos de varios órganos como pulmón, riñón, corazón, intestino delgado e hígado de individuos infectados por SARS-CoV-2 explica la presentación multisistémica de esta enfermedad³.

La lesión endotelial mediada por la infección [caracterizada por niveles elevados del factor de Von Willebrand] y la endotelitis marcada por la presencia de neutrófilos y macrófagos activados, que se encuentran en múltiples lechos vasculares en pacientes con COVID-19, pueden desencadenar una producción excesiva de trombina, inhibir la fibrinólisis y activar las vías del complemento, iniciando la trombo - inflamación y, en última instancia, provocando la deposición de microtrombos y la disfunción microvascular. La comunicación cruzada plaquetas - neutrófilos y la activación de los macrófagos en este contexto, pueden facilitar una serie de efectos proinflamatorios como la liberación de citocinas, la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) y de fibrina con o sin microtrombos. Las NET dañan aún más el endotelio y activan tanto las vías extrínsecas como las intrínsecas de la cascada de coagulación³.

Presentaciones clínicas de COVID-19

Una vez constatada la infección a partir de pruebas diagnósticas de laboratorio para SARS-CoV-2, se observaron diferentes presentaciones clínicas, encuadradas según sus hallazgos clínicos, bioquímicos y/o radiológicos:

- COVID-19 de evolución asintomática: pacientes sin signos ni síntomas clínicos y/o radiológicos.
- COVID-19 de evolución leve: paciente con presencia de síntomas respiratorios, sin presencia de disnea ni insuficiencia respiratoria (frecuencia respiratoria < 18 respiraciones por minuto y una saturación basal de O₂ > 96 %), con un infiltrado escaso o leve, según imagen radiológica.
- COVID-19 de evolución moderada: pacientes con presencia de síntomas respiratorios, disnea e insuficiencia respiratoria leve (frecuencia respiratoria < 22 respiraciones por minuto y una saturación basal de O₂ > 94 %, con requerimiento de O₂ con FIO₂ < 35 % y PaFIO₂ > 200 mmHg) y una imagen radiológica con infiltrados pulmonares bilaterales. Los marcadores inflamatorios aparecen con concentraciones de ferritina > 500 mg/l y/o PCR ultrasensible (PCR-Us), >3 mg/dl.
- COVID-19 de evolución grave: pacientes con presencia de síntomas respiratorios y disnea con insuficiencia respiratoria leve (frecuencia respiratoria >23 respiraciones por minuto y una saturación basal de O₂ <94 %, con requerimiento de O₂ con FIO₂ >35 % y PaFIO₂ <200 mmHg) y una imagen radiológica con infiltrados pulmonares bilaterales. En situaciones de empeoramiento clínico o progresión a estado grave, cualquier valor elevado de las concentraciones basales de ferritina y/o PCR-Us que apoye el diagnóstico clínico de COVID-19 justifica el tratamiento.
- COVID-19 de evolución crítica: pacientes con presencia de disnea, insuficiencia respiratoria e imagen radiológica de neumonía bilateral avanzada o rápidamente evolutiva, que requiere de traslado a Unidad de Terapia Intensiva (UTI) y medidas invasivas (intubación orotraqueal y ARM). La elevación de los parámetros inflamatorios como PCR-Us y ferritina se toma en cuenta para diagnosticar la evolución crítica de la enfermedad y puede ser útil en el seguimiento de la evolución del tratamiento instalado².

Abordaje bioquímico de COVID-19

Según la fisiopatología de este virus, se sugiere una diversidad de marcadores séricos y sanguíneos para estratificar al paciente que pueda tener mayores complicaciones y ser oportunos con las necesidades para sus cuidados. Algunos de los marcadores propuestos incluyen diferentes proteínas de fase aguda como proteína amiloide sérica (SAA) y PCR-Us. Otros marcadores notificados son el aumento de lactato deshidrogenasa (LDH), interleuquina 6 (IL-6), ferritina, dímero-D (DD) y procalcitonina (PCT) en pacientes sobre-infectados. La linfopenia es el marcador pronóstico más frecuentemente descrito en COVID-19 y parece prede-

cir la morbilidad y mortalidad incluso en las primeras etapas. Wynants y col., en 2020, compararon los predictores de la gravedad de la enfermedad en siete estudios, donde se incluyeron más de 1.330 pacientes, y destacaron la PCR, el índice neutrófilos - linfocitos (INL) y LDH como los biomarcadores predictivos más significativos. Zhao y col., en 2020, presentaron un metaanálisis de 30 estudios sobre COVID-19, con un total de 53.000 pacientes, donde también se intentó identificar a los pacientes en fase temprana con mal pronóstico. Los hallazgos más consistentes en los diferentes estudios fueron los niveles elevados de PCR-Us, LDH y DD, así como una disminución de plaquetas y linfocitos en sangre periférica³⁻⁵.

En el contexto de la búsqueda de parámetros o biomarcadores que se acerquen a lo ideal y que posean las siguientes características: reproducibles, no invasivos; buena relación costo – beneficio; elevada sensibilidad y especificidad; con valor pronóstico, el INL podría representar un marcador que cumpla esas condiciones⁷ y contribuya al abordaje terapéutico en estos pacientes. Este índice, desde 2001, inicialmente fue descrito en pacientes oncológicos críticos como marcador de gravedad y se constituye como un novedoso marcador de inflamación subclínica con valor pronóstico en enfermedades cardiovasculares, oncológicas e infecciosas. Este parámetro se obtiene a partir de los datos del hemograma, lo cual representa un costo menor con respecto a otros marcadores conocidos⁸.

El objetivo de este estudio es evaluar el INL como marcador bioquímico pronóstico de desarrollo de un cuadro grave de COVID-19.

Materiales y métodos

En este trabajo, se utilizó un diseño observacional, longitudinal, de cohorte, retrospectivo. La población de estudio está compuesta por 571 individuos con diagnóstico de COVID-19 confirmado por métodos de inmunocromatografía a partir del kit diagnóstico Panbio™ COVID-19 Ag rapid test device (Abbot) y por la metodología molecular considerada de referencia, *rt-PCR* (*real time polymerase chain reaction*). Estas fueron las estrategias diagnósticas ofrecidas por la Dirección de Epidemiología en acuerdo con el Ministerio de Salud de la Provincia de La Pampa durante el período comprendido entre el 15 de abril y el 15 de junio de 2021. Esta estrategia se aplicó en pacientes con un rango etario comprendido entre 18 y 80 años, con fecha de inicio de síntomas (FIS) de 1 a 14 días, con residencia en Santa Rosa (La Pampa), que recibieron atención domiciliaria y que requirieron de una evaluación complementaria en el Hospital Comunitario Generalista Evita. Esta evaluación incluyó estudios a partir de una tomografía axial computada (TAC), conjuntamente con prácticas de laboratorio comprendidas en una serie de determinaciones preformadas y normalizadas por este servicio, que incluyeron: hemograma, coagulograma, glucemia, función renal y hepática, creatinfosfoquinasa (CK), LDH, PCR-Us, estado ácido - base arterial con paráme-

Tabla 1. Características de la población en estudio (N: 571).

Sexo	Femenino	248 (43,4%)
	Masculino	323 (56,6%)
Edad	Media	50,27 años
	Desviación estándar	14,44 años
FIS	Media	7,29 días
	Desviación estándar	3,16 días
Internación	Internación general	148 (25,9%)
	Internación UTI/ARM	26 (4,6%)
Fallecidos		31 (5,4%)
INL	<3,1	231 (40,5%)
	≥3,1	340 (59,5%)

► FIS, fecha de inicio de síntomas; UTI, Unidad de Terapia Intensiva; ARM, asistencia respiratoria mecánica; INL, índice neutrófilo/linfocito. Los resultados observados se expresan en valor absoluto y dentro del paréntesis, su valor relativo porcentual.

tros de oximetría y lactato. De esta manera, se utilizaron diferentes marcadores bioquímicos para la búsqueda de posibles alteraciones multisistémicas, propias de la COVID-19. Solo en situaciones especiales, y según criterio médico, se realizó, sobre determinados pacientes, la evaluación de DD y ferritina con derivación al Servicio de Laboratorio del Hospital Lucio Molas de esta ciudad. Se tomó como marcador de

evolución desfavorable la hospitalización de estos pacientes y como punto de corte final, el requerimiento de ARM y/o fallecimiento de los mismos.

Los datos para el estudio se extrajeron del Sistema Informático de Administración Hospitalaria de la provincia de La Pampa (SIS), el cual cuenta con una historia clínica unificada a partir del DNI/DU de cada habitante de la provincia.

Tabla 2. Frecuencia de aparición de registros patológicos en la población de estudio.

Antecedentes patológicos personales	n (%)
HTA	159 (27,8)
Obesidad	149 (26,1)
DBT	95 (16,6)
Enfermedad coronaria	64 (11,2)
EPOC	49 (8,6)
Tabaquismo	36 (6,3)
Ex tabaquismo	15 (2,62)
Asma	25 (4,4)
Otros APP	181 (14,4)
IRC	11 (1,9)
Enf. neurológica	9 (1,6)
Enf. inmunológica	11 (1,9)
Enf. hepática	4 (0,7)
Enf. oncológica	18 (3,2)
Dislipemias	29 (5,1)

► HTA, hipertensión arterial; DBT, diabetes mellitus; EPOC, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; APP, antecedentes patológicos personales. Los resultados observados se expresan en valor absoluto y dentro del paréntesis, su valor relativo porcentual.

El SIS es un repositorio de datos sanitarios de la población aportados por cada usuario, matriculado, técnico/profesional que pertenezca al sistema público de salud. De esta manera, se logra la trazabilidad del historial médico de cada individuo. También se tomaron datos del Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA-SNVS 2.0), utilizando la misma ruta de acceso, el DNI/DU respectivo. Para poder hacer uso de estos datos, se obtuvieron las autorizaciones pertinentes de la Dirección de Epidemiología y el Ministerio de Salud de la provincia de La Pampa. Estos datos fueron trabajados de manera confidencial, de modo tal que la información obtenida no pueda asociarse con una persona determinada. El trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Capacitación y Docencia del Hospital Comunitario Generalista Evita.

El sistema de medición empleado en este estudio para la realización del hemograma en el laboratorio del Hospital Comunitario Generalista Evita en el área de Hematología fue un analizador Sysmex XN 550 Serie N°18121 (Roche), el cual utiliza la tecnología de citometría de flujo fluorescente para el recuento diferencial de seis partes en todos los hemogramas, además de la metodología de impedancia y enfoque hidrodinámico para el conteo preciso de eritrocitos y plaquetas y del método de sulfato lauril de sodio (SLS) libre de cianuro para la determinación de la hemoglobina. Este equipamiento fue sometido a verificaciones en términos de precisión, exactitud y linealidad, utilizando como guía EP15-A3 y EP06-A, del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). El Servicio de Laboratorio realiza la evaluación del desempeño analítico de este sistema de medición⁹⁻¹¹ a

partir de los controles de calidad internos comerciales (XN-Check); la participación en programas de calidad externos, ProgBA del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC); el requerimiento de calidad para recuento de glóbulos blancos propuesto por Clinical Laboratory Improvement Amend (CLIA), American Association of Bioanalysts (AAB) y College of American Pathologists (CAP): EtA 15 %. También participa del *peer group Insight (Sysmex)*, que ofrece el fabricante, con un desempeño óptimo.

Las muestras utilizadas para el conteo hematológico fueron obtenidas por punción venosa o arterial, recolectadas en tubos comerciales marca Nipro, 13x75mm, calibrados con anticoagulante de elección K₃ EDTA x 1 ml de sangre, con tapa lila perforable.

El INL se obtuvo como cálculo del cociente entre el número absoluto de neutrófilos y el número absoluto de linfocitos valorados en el hemograma. El punto de corte elegido como marcador de riesgo es INL \geq 3,1, según lo sugiere la Sociedad Argentina de Terapia Intensiva (SATI)¹² y otros trabajos realizados⁷.

Para el análisis estadístico, se utilizaron diferentes *softwares*: Excel, Infostat e IBM SPSS. Como métodos estadísticos, se trabajó con cálculos de medidas de resumen, cálculo de frecuencias, análisis multivariados de regresión logística y pruebas de chi cuadrado.

Resultados

Durante el período evaluado, se recolectaron datos sobre 571 pacientes, los cuales se ordenaron en una tabla de trabajo que contiene la siguiente información: DNI/DU, edad,

Tabla 3. Resultado del análisis multivariado de regresión logística enfrentando tres eventos en modelos sin y con incorporación de la variable índice neutrófilo/linfocito \geq 3,1.

	Evento: internación				Evento: ARM				Evento: muerte			
	Modelo sin INL		Modelo con INL		Modelo sin INL		Modelo con INL		Modelo sin INL		Modelo con INL	
	Signif.	Expβ	Signif.	Expβ	Signif.	Expβ	Signif.	Expβ	Signif.	Expβ	Signif.	Expβ
Edad	0,001*	1,026	0,026*	1,019	0,202	1,022	0,451	1,013	0,001*	1,059	0,030*	1,052
Sexo masculino	<0,001*	0,477	0,003*	0,519	0,043*	0,383	0,061	0,404	0,045*	0,425	0,064	0,447
Diabetes	0,132	1,514	0,1	1,605	0,747	1,191	0,589	1,348	0,188	1,836	0,145	1,988
Asma	0,32	1,598	0,663	1,232	<0,001*	9,801**	0,001*	7,557**	0,513	1,656	0,661	1,397
EPOC	0,142	1,646	0,162	1,636	0,363	0,507	0,366	0,509	0,321	1,722	0,404	1,594
HTA	0,62	1,133	0,611	1,141	0,551	1,348	0,566	1,34	0,098	2,133	0,099	2,163
Enf. oncológica	0,639	1,308	0,467	1,539	0,968	0,951	0,635	1,712	0,19	3,08	0,112	3,893
Obesidad	0,299	1,279	0,18	1,392	0,241	1,727	0,184	1,877	0,854	0,913	0,984	1,01
INL \geq 3,1	-	-	<0,001*	4,405**	-	-	0,09	7,507	-	-	0,012*	4,982**
R ² Nagelkerke	0,101		0,196		0,128		0,186		0,205		0,246	

► ARM, asistencia respiratoria mecánica; INL, índice neutrófilo/linfocito; SIGNIF, significación de chi-cuadrado del modelo; Expβ, exponencial de beta o b; EPOC, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; HTA, hipertensión arterial; Enf. oncológica, enfermedad oncológica; [*], Si el valor de significación es menor que 0,05 esa variable independiente explica la variable dependiente y se considera estadísticamente significativa; [**], El Exp(β) indica la fortaleza de la relación entre las variables: cuanto más alejada de 1 está, más fuerte es la relación y se consideran estos datos estadísticamente significativos; R² Nagelkerke: es un coeficiente de determinación generalizado que se utiliza para estimar la proporción de varianza de la variable dependiente, explicada por las variables independientes. Su valor fluctúa entre 0 y 1; cuanto más alto, mejor es el modelo.

Tabla 4. Tabla de contingencia 2 x 2 para el análisis estadístico sobre la eficiencia del índice neutrófilo/linfocito.

	Desarrollo de COVID-19 grave	Sin desarrollo de COVID-19 grave	
INL $\geq 3,1$	24	316	340
INL $< 3,1$	2	229	231
	26	545	571

► INL, índice neutrófilo/linfocito con su valor de corte $\geq 3,1$ como marcador de riesgo de desarrollar COVID-19 grave.

sexo, APP, fecha de prueba diagnóstica positiva para COVID-19, fecha de toma de muestra para laboratorio de control y FIS al momento de la evaluación de laboratorio. Como datos bioquímicos, se constató la presencia del INL de cada paciente, así como también la linfopenia, y valores de PCR-us y LDH. Finalmente, como marcadores de gravedad de la patología, se tomó registro de internaciones requeridas, ingreso a UTI con ARM y fallecimiento. Con la revisión de las historias clínicas de estos 571 pacientes, se constató el estado de vacunación al momento de la toma de muestra de estudio.

En este trabajo, no se analizaron las particularidades propias de otros marcadores bioquímicos, así como tampoco su interacción con el INL, situación que podría eventualmente abordarse en futuros estudios.

En el análisis descriptivo de la población estudiada, se evaluaron el sexo, edad, FIS, así como también, los eventos de internación general, internación UTI con requerimiento de ARM y fallecimiento (Tabla 1).

Con referencia a los datos previos de APP de la población en estudio, se observó mayoritariamente la presencia de hipertensión arterial, obesidad y diabetes mellitus como patologías más relevantes. En la tabla 2, se detalla la frecuencia de aparición de los registros patológicos.

Como parte de las características de la población estudiada y, según el período de estudio, es necesario mencionar que la variante de circulación identificada y predominante de SARS-CoV-2 fue la P.1 (Manaos) y, en menor medida, C37 (Andina), según lo reportado por la Dirección de Epidemiología de la provincia hasta la semana epidemiológica 24 del año 2021¹³. El estado de inmunización que se registró en

los pacientes que conformaron esta población de estudio presentó una frecuencia menor que la del total de la población vacunada hasta el 15 de junio 2021¹³ (50,17 % primera dosis - N: 571; 10 % segunda dosis - N: 540).

La población en estudio presenta una gran dispersión en cuanto a edad, sexo y APP. Estos datos se sometieron a un análisis multivariado de regresión logística, la cual es una técnica estadística que permite estimar la relación existente entre una variable dependiente y un conjunto de variables independientes. El objetivo general de la regresión logística es predecir la probabilidad de un evento de interés en una investigación, así como identificar las variables útiles para tal predicción¹⁴. En este trabajo, se evaluaron dos modelos estadísticos: uno sin incluir la variable $INL \geq 3,1$ y otro que la incluía. De este modo, se evalúan las variables que predicen *per se* la probabilidad de ocurrencia de los eventos: internación general, internación con requerimiento de ARM y muerte. También se evaluó el cambio en el modelo, al agregar la relación $INL \geq 3,1$. En cada uno de los eventos, se observa que el modelo mejora al incorporar el INL como variable en el análisis, ya que los valores de R^2 de Nagelkerke aumentan y las variables independientes explican estadísticamente la variable dependiente (Tabla 3). Para este análisis se utilizó el *software IBM SPSS*.

La sensibilidad y especificidad de una prueba o marcador de laboratorio son características intrínsecas de su desempeño. Para su cálculo, se utiliza una tabla de contingencia 2 x 2 en la cual como variables binarias, se toman $INL \geq 3,1 < 3,1$ y el potencial desarrollo de enfermedad grave COVID-19 con requerimiento de internación y tratamiento con ARM, con los datos aportados de nuestra población de estudio

Tabla 5. Características diagnósticas del índice neutrófilo/linfocito como marcador de diagnóstico y/o pronóstico de desarrollo de COVID-19 grave.

Sensibilidad	92 %
Especificidad	42 %
VPP	7 %
VPN	99 %

► INL, índice neutrófilo/linfocito; VPP, valor predictivo positivo, VPP (Proporción de pacientes con una prueba positiva, que realmente tienen la enfermedad de interés); VPN, valor predictivo negativo (Proporción de pacientes con una prueba negativa, que realmente están libres de la enfermedad de interés).

[Tabla 4]. A partir de los datos de la población en estudio y la elaboración de la tabla de contingencia 2 x 2, se obtienen los resultados sobre el INL: sensibilidad; especificidad; valor predictivo positivo [VPP] y negativo [VPN], que se detallan en la tabla 5.

Discusión

Con base en nuestros resultados, podemos concluir que el INL es un buen marcador como predictor de enfermedad grave por COVID-19, en las primeras etapas de infección. Esto se demostró en los eventos evaluados: internación general y fallecimiento, y se observó, a partir del estadístico Exp [β], la fortaleza de la relación entre tener un INL $\geq 3,1$ y dichos eventos. El evento internación en UTI con requerimiento de ARM, no posee significancia estadística (Sig. $\text{inf.} < 0.05$). De este modo este parámetro se convierte en una herramienta útil, en conjunto con las características clínicas de los pacientes, los APP y otras pruebas complementarias, para establecer un pronóstico temprano. En cuanto al desempeño del INL, concluimos que la alta sensibilidad lo posiciona como un buen marcador de inflamación general, así como también podemos afirmar que no posee valor como marcador diagnóstico *per se*, debido a su baja especificidad y VPP. Utilizando el alto VPN de este índice, puede concluirse que aquellas personas que presentaron valores de INL $< 3,1$ tienen alta probabilidad de no desarrollar formas graves de COVID-19. Estos resultados son coincidentes con otros trabajos publicados anteriormente^{15,16}.

Sumado a la confirmación estadística del comportamiento de este parámetro bioquímico, es importante remarcar que el INL se convierte en un buen marcador pronóstico de enfermedad grave por COVID-19 con características de relevancia en la práctica clínica, ya que es reproducible, accesible, poco invasivo, de rápida y confiable valoración.

Agradecimientos

Agradecemos especialmente por la ayuda técnica al Dr. Marcos A. Mayer, médico especialista en nutrición, doctor de la Universidad de Buenos Aires, investigador en Salud del CONICET, quien participó en la evaluación de datos estadísticos.

Agradecemos por la confianza y la autorización necesaria para la realización de este trabajo a la Dirección del Hospital Comunitario Generalista Evita, a la Dirección de Epidemiología y, en especial, al Ministerio de Salud de la provincia de La Pampa.

Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

- Alves-Cunha A, Quispe-Cornejo A, Ávila-Hilari A, Valdivia-Cayoja A, Chino-Mendoza J, Vera-Carrasco O. Breve Historia y fisiopatología del COVID-19. [Internet] Cuad. Hosp. Clín. 2020; 61(1):130-143.
- Cervera-Segura R, Espinosa-Garriga G, Ramos-Casals M, Hernández-Rodríguez J, Prieto-González S, Espígol-Frigolé G, et al. Respuesta Inmunoinflamatoria en la COVID-19. Editorial Medica Panamericana [Internet] Enfermedades Autoinmunes Sistémicas. 6ª Edición. 2021:1-22. Disponible en: <https://www.medicapanamericana.com/ar/libro/respuesta-inmunoinflamatoria-en-la-covid-19>
- Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nandini N, Mahajan S, Tejasav S et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. Nat Med 2020; 26:1017–1032.
- Vabret N, Britton G, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. Immunity 2020; 52(6):910–941.
- Trougakos I, Stamatelopoulou K, Terpos E, Tsitsilonis O, Aivalioti E, Paraskevas D. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. J Biomed Sci. 2021; 28(9):1-18.
- Cano F, Gajardo M, Freundlich M. Eje Renina Angiotensina, Enzima Convertidora de Angiotensina 2 y Coronavirus. Rev. Chil. pediatr. 2020; 91(3):330-338.
- Sáenz-López J, Sierra-Rodríguez M, García-Salcedo J. Predictores de Mortalidad en Pacientes con COVID-19. iMedPub Journal. 2020;16(2):1-3.
- Lopez-Diaz J, Gonzalez-Carrillo P, Hernandez-Gonzalez M, Luevanos-Aguilera A. Delta de índice neutrófilo linfocitario como marcador de mortalidad en pacientes con diagnóstico de choque séptico en unidad de cuidados intensivos. Acta Colombiana de Cuidado Intensivo. 2021; 21(2):135–41.
- Laboratorio Hospital Comunitario Generalista Evita. Desempeño Analítico de Hematología 04/2021. [Internet]. Disponible en: https://docs.google.com/spreadsheets/d/e/2PACX-1vThZocXLjLN6zFWZ0xtPFPNmCCTaECaDgVHCIEdBODYSXJ2wNkXb_nfPHCi09FP6Q/pub?gid=2058970597&single=true&output=pdf
- Laboratorio Hospital Comunitario Generalista Evita. Desempeño Analítico de Hematología 05/2021. [Internet]. Disponible en: https://docs.google.com/spreadsheets/d/e/2PACX-1vTRBUB-ShzBIN4PYztjWnT3ZGb7ND010YYtA0Fo19_TvdGrgrMIMn5nvTCV7d26g/pub?gid=2058970597&single=true&output=pdf
- Laboratorio Hospital Comunitario Generalista Evita. Desempeño Analítico de Hematología 06/2021. [Internet]. Disponible en: <https://docs.google.com/spreadsheets/d/e/2PACX-1vT7g50erfGZiLh-E9G0vchU-ggCsL5YTxioaRshLkvro3HyE8hp7j5gt0oDjxoFZfg/pub?gid=2058970597&single=true&output=pdf>
- SATI Capítulo Bioquímico. COVID-19: Parámetros Bioquímicos de Importancia [Internet]. 2020;vol.2:1-6. Disponible en: https://cofybcf.org.ar/src/img_up/25062020.1.pdf
- Dirección de Epidemiología Ministerio de Salud de La Pampa. Sala de Situación Coronavirus. [Internet]. 2021. Disponible en: <https://docs.google.com/document/d/e/2PACX-1vSG2upMSWmhH5aLRAvhPaEhi4qj345L-JvbJAW7WfXa2BDxjtMmNBK7f3rLs05ZL0il1Szaovv5Doso/pub>
- IBM. SPSS Manual de Uso [Internet]. 2019:1-12. Disponible en: https://www.ibm.com/docs/en/SSLVMB_26.0.0/pdf/es/IBM_SPSS_Regression.pdf
- Liu J, Liu Y, Xiang P, Pu L, Xiong H, Li C et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. J Transl Med. 2020;18(206):1-12.
- Basbus L, Lapidus M, Martingano I, Puga M, Pollán J. Índice Neutrófilo-Linfocito como factor pronóstico de COVID-19. Medicina (B.Aires). 2020;80(3):31-36.

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación de factores de riesgo cardiometabólico en embarazadas, niños y adolescentes de una población patagónica argentina.

Evaluation of cardiometabolic risk factors in pregnant women, children and adolescents in an Argentine Patagonian population

Ponce, Graciela Mabel¹; García, Jorge Alberto¹; Quezada, Andrés Orlando¹; Rodríguez María Alejandra¹.

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

*Contacto: Ponce, Graciela Mabel. Islas Malvinas N° 1718, Rada Tilly, Chubut, Argentina; gracielamabelponce@gmail.com

Resumen

Introducción: El aumento de peso corporal, la hipertensión arterial, la diabetes y la hipercolesterolemia son factores de riesgo cardiometabólico asociados a un gran número de patologías. **Objetivo:** Describir la presencia de sobrepeso/obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia e hipercolesterolemia en un grupo de embarazadas, niños y adolescentes de una ciudad patagónica investigado con anterioridad a la pandemia de SARS-CoV-2. **Materiales y métodos:** Se estudiaron tres grupos de la ciudad de Comodoro Rivadavia: G1: 293 embarazadas (semana 16 de gesta); G2: 317 niños (6 y 11 años) y G3: 496 adolescentes (12 y 16 años). Se evaluaron el peso, la talla y el índice de masa corporal (IMC). Se midió tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD) y se determinaron: glucemia (G), colesterol total (CT), colesterol HDL (HDL), colesterol LDL (LDL) y triglicéridos (TG). **Resultados:** Los factores de riesgo encontrados fueron: en G1: 30,4 % de sobrepeso/obesidad, 21,4 % de hipertensión arterial y 18,6 % de hipercolesterolemia; en G2: 51,7 % de sobrepeso/obesidad y 39 % de hipercolesterolemia y en G3: 38 % de sobrepeso/obesidad, 12,7 % de hipertensión arterial y 32,5 % de hipercolesterolemia. **Conclusiones:** En este estudio, se muestra la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad en los tres grupos, situación que favorece la aparición de otros factores que ponen en riesgo la salud. Por esto, implementar políticas de control sobre la industria y la promoción, de manera de proteger a la población de la exposición a ambientes obesogénicos contribuiría a frenar el crecimiento epidémico de esta problemática.

Palabras clave: factores de riesgo, población infantojuvenil, embarazo.

Abstract

Introduction: Body weight gain, high blood pressure, diabetes and hypercholesterolemia are cardiometabolic risk factors associated with a large number of pathologies. **Objective:** To describe the presence of overweight/obesity, arterial hypertension, hyperglycemia and hypercholesterolemia in a group of pregnant women, children and adolescents from a Patagonian city of Argentina prior to the SARS-CoV-2 pandemic. **Materials and methods:** Three groups from the city of Comodoro Rivadavia were studied. G1: 293 pregnant women (week 16 of gestation); G2: 317 children (6 to 11 years old) and G3: 496 adolescents (12 to 16 years old). We evaluated: weight, height, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL), LDL cholesterol (LDL) and triglycerides (TG). **Results:** The risk factors found were: in G1: 30.4 % overweight/obesity, 21.4 % arterial hypertension and 18.6 % hypercholesterolemia; in G2: 51.7 % overweight/obesity and 39 % hypercholesterolemia and in G3: 38 % overweight/obesity, 12.7 % arterial hypertension and 32.5 % hypercholesterolemia. **Conclusion:** This study shows the high prevalence of overweight and obesity in the three groups, a situation that favors the appearance of other factors that put health at risk. Implementing control policies on the industry and promotion, to protect the population from exposure to obesogenic environments, would help curb the epidemic growth of this problem.

Key words: risk factors, child and adolescent population, pregnant.

Introducción

Los cambios en los patrones de alimentación y de actividad física han incrementado el desarrollo de la obesidad a nivel mundial. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹, esta patología se encuentra entre las primeras diez causas de riesgo. En países en vías de desarrollo, su prevalencia ocupa el quinto lugar: las mujeres en edad reproductiva son el grupo con cifras entre el 20 y el 34 %, en tanto que los niños y adolescentes representan alrededor del 40 %.²

El mayor acceso a alimentos de bajo costo con alto contenido energético, la poca actividad física diaria y una creciente dependencia de la tecnología son algunos aspectos que caracterizan la vida moderna, sobre todo en el medio urbano.

El aumento de peso corporal, la hipertensión arterial, la diabetes y la hipercolesterolemia son factores de riesgo cardiometabólico asociados a un gran número de patologías. Dichos factores pueden aparecer en cualquier momento de la vida y ser consecuencia de factores genéticos, epigenéticos, ambientales o la suma de todos ellos. En nuestro país, estas enfermedades son responsables del 73,4 % de las muertes, del 52 % de los años de vida perdidos por muerte prematura y del 76 % de los años de vida ajustados por discapacidad.³

El componente hereditario de los procesos multifactoriales y complejos, involucrado en la obesidad no puede ser explicado solo por cambios en la secuencia del ADN. Hoy se sabe que la epigenética definida “como una forma de regulación génica en células especializadas que no implica cambios en la secuencia del ADN”, podría ser responsable de la expresión de estas enfermedades crónicas a través de varios tipos de marcas que se agregan al ADN o a la cromatina y que afectan la transcripción de un gen de manera transitoria o persistente.⁴

Existe amplia evidencia científica para considerar la hipertensión arterial como el factor de riesgo de mayor peso en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, ya que está fuertemente asociada a la ocurrencia de diversas patologías, tales como la enfermedad cardiovascular, la enfermedad coronaria, la insuficiencia cardíaca, la fibrilación auricular, las enfermedades de la aorta y arterias periféricas, la demencia, la insuficiencia renal y la retinopatía.^{5,6}

La diabetes mellitus se presenta como una epidemia mundial. Se estima que el número total de personas que la padecen se elevará a 629 millones en 2045 en todo el mundo, y será una de las principales causas de enfermedad y muerte prematura.⁷

Otro de los factores responsables de la enfermedad cardiovascular es el colesterol elevado, que se estima que causa 2,6 millones de muertes por año y una pérdida de 29,7 millones de años de vida ajustados por discapacidad.⁸

Educación en etapas tempranas de la vida sobre la adopción de un estilo de vida saludable permite consolidar determinadas conductas que marcarán el comportamiento en el adulto. Este momento constituye una oportunidad única para

reducir el impacto que los factores de riesgo mencionados provocan sobre el propio individuo y los sistemas de salud.

El objetivo del presente estudio fue describir la presencia de sobrepeso, obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia e hipercolesterolemia en un grupo de embarazadas, niños y adolescentes de una ciudad patagónica, estudiado con anterioridad a la pandemia SARS-CoV-2.

Materiales y Métodos

Se trabajó con un diseño descriptivo de corte transversal. El muestreo realizado en todos los grupos fue no probabilístico, consecutivo, debiendo cumplirse los siguientes criterios de selección: criterios de inclusión: para G1: embarazadas entre 19 y 40 años, con no más de 16 semanas de gesta, que asistieron a centros públicos y privados de salud de la ciudad de Comodoro Rivadavia, y que fuesen residentes durante al menos 5 años en la localidad; para G2 y G3: niños entre 6 y 11 años (G1) y entre 12 y 16 años (G2) que concurrieran a un establecimiento educativo y que firmaran su asentimiento; padres que dieran el consentimiento informado por escrito. Los criterios de exclusión fueron: para G1, G2 y G3: presentar alguna patología aguda al momento del estudio o antecedentes de enfermedad crónica, renal, hepática o tiroidea o haber recibido medicamentos que pudieran afectar el metabolismo energético y/o lipídico en los 6 meses previos a la realización del trabajo. El desarrollo del protocolo siguió las normas éticas internacionales (Declaración de Helsinki).

Se llevaron a cabo determinaciones antropométricas: se midió el peso y la talla manteniendo a los voluntarios de pie, con vestimenta ligera y descalzos, en una balanza modelo CAM® con una precisión de $\pm 0,5$ Kg y $\pm 0,5$ cm, respectivamente. Se calculó el índice de masa corporal (IMC) como una proporción del peso [kg]/talla² [m²]. Para categorizar a los grupos como *sobrepeso/obesos* se utilizaron para G1, las tablas proporcionadas por el Ministerio de Salud de la Nación Argentina⁹, que considera el IMC vs. edad gestacional; en G2, el indicador ZIMC (criterio OMS)¹⁰ >1 y en G3, el indicador percentilo IMC (criterio CDC)¹¹ >85 .

Se realizaron determinaciones bioquímicas: en una muestra de sangre obtenida con un ayuno de 12 horas, se determinaron los niveles de colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicéridos y glucemia, en los tres grupos. En las embarazadas, se utilizaron los valores sugeridos en la Guía sobre la prevención primaria de enfermedades cardiovasculares.¹² Para los grupos de niños y adolescentes, se emplearon los propuestos por guías integradas para la salud cardiovascular y reducción del riesgo.¹³ En el caso de la glucemia, se emplearon las cifras propuestas por la *American Diabetes Association*, para los tres grupos.¹⁴ Respecto del Colesterol total (CT) se determinó por el método enzimático de colesterol oxidasa/peroxidasa. Los ésteres de colesterol, por acción de la enzima lipasa, forman colesterol, que se oxida transformándose en colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno; este último reacciona con la 4-amino-fenazona

para dar un compuesto coloreado. Los puntos de corte utilizados fueron: valores deseables: G1: menor o igual a 200 mg/dl; G2 y G3: menor o igual a 170 mg/dl. El HDL colesterol (HDL) se realizó por el método enzimático directo con empleo de enzimas modificadas por polietilenglicol. Los puntos de corte considerados fueron valores deseables: G1: mayor o igual a 45 mg/dl; G2 y G3: mayor o igual a 40 mg/dl. El LDL colesterol (LDL) se calculó mediante el empleo de la fórmula de Friedewald: $LDL = CT - [HDL + (TG / 5)]$. En aquellas muestras cuyos valores de triglicéridos superaban los 250 mg/dl, el LDL colesterol se determinó por el método enzimático de colesterol oxidasa/peroxidasa, previa precipitación selectiva mediante el agregado de polímeros de alto peso molecular. Los puntos de corte empleados fueron: valores deseables: G1, G2 y G3: menor o igual a 130 mg/dl. Los Triglicéridos (TG) se determinaron por método enzimático de la lipoproteína lipasa, que producen glicerol más ácidos grasos. Estos últimos se fosforilan por acción de una quinasa y el producto fosforilado es oxidado en un siguiente paso en el que produce peróxido de hidrógeno, que reacciona con la 4-amino-fenazona para dar un complejo coloreado. Los puntos de corte utilizados fueron: valores deseables: G1, G2 y G3: menor o igual a 150 mg/dl. La Glucemia [G] se determinó por el método enzimático de la glucosa oxidasa. La glucosa se oxida transformándose en ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, y este último reacciona con la 4- amino- fenazona para dar una quinona coloreada. Los puntos de corte utilizados fueron: valores deseables G1, G2 y G3: menor o igual a 110mg/dl. En todos los casos, el producto final de cada reacción se midió en un analizador automatizado de química seca Vitros 350®.

Por otro lado, se midió la tensión arterial con un tensiómetro semidigital OM-ROM HEM-431® validado por la Sociedad Europea de Hipertensión Arterial para esta finalidad. Antes de la evaluación, se solicitó a los voluntarios que permanecieran sentados, con la espalda apoyada en el respaldo, las piernas descruzadas y el brazo derecho descubierto, relajado y apoyado a la altura del corazón. El extremo inferior del manguito se colocó a 2 centímetros por encima del pliegue del brazo y se les indicó a los voluntarios que no hablaran mientras se infla y desinfla el manguito. Se obtuvieron inicialmente tres tomas de presión separadas por un minuto. De las 3 tomas, se promediaron la segunda y la tercera para determinar el valor de presión arterial media. Esta cifra es la que se tuvo en cuenta para considerar si los participantes se encontraban normotensos o hipertensos en la consulta. Como valores de corte para G1, se consideraron: 116 ± 12 [presión sistólica: PS] y 70 ± 7 [presión diastólica: PD]¹⁵; para G2, presión sistólica >130 y diastólica >85 ¹⁶; para G3, presión sistólica y diastólica mayores que el percentilo 90 [ATPIII]¹⁷.

Análisis estadístico

Se evaluó la diferencia entre variables mediante el test de proporciones de χ^2 . Para el análisis estadístico, se utilizó el programa *Stata 11.0* [StataCorp LP, College Station, Texas].¹⁸

Resultados

Los factores de riesgo cardiometabólico hallados en los individuos estudiados se observan en la tabla I.

Tabla I. Prevalencia de factores de riesgo cardiometabólico en los tres grupos estudiados.

	G1 n = 293	G2 n = 317	G3 n = 496
Sobrepeso/obesidad	30,4 % ^a	51,7 % ^b	38,0 % ^c
Hipercolesterolemia	18,6 % ^a	39,0 % ^b	32,5 % ^c
Hiperglucemia	0,04 %	0 %	0 %
Hipertensión arterial	21,4 % ^a	7,10 % ^b	12,7 % ^c

► ^{a,b,c} Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas.

Discusión

La epidemia de obesidad no excluye a las mujeres en edad reproductiva. Numerosas publicaciones muestran que las mujeres que al momento de embarazarse tienen un IMC normal presentan mejor evolución en el embarazo y el parto que aquellas que lo inician con sobrepeso u obesidad.¹⁹ Como se muestra en este estudio, la población de la ciudad de Comodoro Rivadavia no es ajena a esta problemática, a la que, además, se suman otros factores de riesgo como la hipercolesterolemia y el incremento de la tensión arterial. La obesidad es un padecimiento metabólico y endócrino difícil, que influye en el embarazo con varias complicaciones. Se ha reportado como un factor de riesgo de preeclampsia, además de repercutir de manera adversa sobre el embarazo. A su vez, la preeclampsia es considerada como una dificultad de salud pública y una de las principales causas de muerte materna. Su incidencia oscila entre 2 y 10 % en el total de los embarazos, y la obesidad es un predecesor de la eclampsia, cuya incidencia varía a nivel mundial.²⁰ Puede ser causa de abortos espontáneos en el primer trimestre y de anomalías congénitas. La obesidad, especialmente con hiperlipidemia, se asocia con un mayor nivel de estrés oxidativo, con disfunción endotelial, lo cual aumenta el riesgo de desarrollar preeclampsia.²¹

En el caso de los niños, los factores de riesgo más prevalentes encontrados fueron el incremento de peso y la hipercolesterolemia (Tabla I). El sobrepeso y la obesidad infantil, si no son tratados, tienden a mantenerse en la adolescencia y en la adultez, predisponiendo a las personas que lo padecen a desarrollar enfermedades como diabetes, cardiopatías y trastornos osteomusculares, entre otros. Estas enfermedades relacionadas con la nutrición son una de las principales causas de discapacidad y muerte.²² El incremento del IMC, justo después de alcanzar su valor más bajo alrededor de los seis años, es el que se conoce como *rebote adiposo*. Existe evidencia de que cuanto más tempranamente aparezca el rebote adiposo (principalmente antes de

los cinco años), mayor será el riesgo de obesidad en edades posteriores. En este estudio, se encontró que el mayor porcentaje de sobrepeso y obesidad se presentaba a los 7 años en el sexo femenino, mientras que, en los varones, se observó entre los 10 y 11 años. Como puede apreciarse en la tabla I, más de la mitad de los niños estudiados mostraron incremento de peso. El niño con sobrepeso debe ser detectado tan pronto como sea posible para evitar la aparición de una obesidad mayor, por lo que es esencial seguir cuidadosamente la curva de IMC en todos los niños, con especial atención a la edad del rebote adiposo temprano.²³ Este momento de la vida resulta importante para ejercer cambios en la conducta, ya que las intervenciones dirigidas a prevenir obesidad en preescolares han demostrado ser las más efectivas. Entre ellas, se incluyen medidas basadas en teorías conductuales, que utilizan la educación interactiva junto con experiencias prácticas²⁴, sobre la actividad física y la nutrición y el involucramiento activo de los padres.

En el grupo de adolescentes evaluados, también el aumento de peso y la hipercolesterolemia fueron los factores de riesgo protagonistas (Tabla I). Las cifras encontradas en esta población son mayores que las descritas en Europa, que presenta un 20 % de adolescentes con sobrepeso y un 5 % con obesidad.²⁵

La adolescencia es una etapa crítica, ya que conlleva un incremento de las necesidades energéticas, proteicas y de micronutrientes que supera cualquier otra etapa de la vida. Durante la pubertad, se adquiere el 25 % de la talla adulta, se aumenta un 50 % la masa esquelética, se duplica la masa muscular (sobre todo en el sexo masculino) y se produce un aumento del volumen sanguíneo y de los órganos internos. Todos estos cambios condicionan un aumento de las necesidades nutricionales.²⁶

En relación con la hipercolesterolemia, como puede apreciarse en la tabla I, más de un cuarto de los participantes presentaron este factor de riesgo. En un trabajo realizado en Ecuador, también se encontraron como factores más relevantes en este grupo la obesidad y la hipercolesterolemia y, en menor proporción, la hipertensión y la hiperglucemia.²⁷

En el presente trabajo, la hiperglucemia no se constituyó en un problema de alto impacto para ningún grupo.

Conclusión

En este estudio, se muestra la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad en los tres grupos, situación que favorece la aparición de otros factores que ponen en riesgo la salud. Modificar esta situación requiere del esfuerzo conjunto de varios actores, entre ellos, los estados, para implementar políticas de control sobre la industria y la promoción, de manera de proteger a la población de la exposición a ambientes obesogénicos. De esta forma, se contribuiría a frenar el crecimiento epidémico de tal problemática.

Referencias bibliográficas

1. Organización Mundial de la Salud. Centro de prensa. Obesidad y sobrepeso [consultado 27 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
2. Hanson M, Gluckman P, Bustreo F. Obesity and the health of future generations. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016; 4 [12]: 966 - 967.
3. 4ª Encuesta de Factores de Riesgo. Resultados definitivos. 1ª ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos – INDEC; Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Secretaría de Gobierno de Salud de la Nación, 2019.
4. Fleisch AF, Wright RO, Baccarelli AA. Environmental epigenetics: a role in endocrine disease. *J Mol Endocrinol* 2012; 49 [2]: R61 - R70.
5. Gottesman RF, Albert MS, Alonso A, Coker LH, Coresh J, Davis SM et al. Associations between midlife vascular risk factors and 25-year incident dementia in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort. *JAMA Neurol*. 2017; 74: 1246 - 1254.
6. Rovio SP, Pahkala K, Nevalainen J, Juonala M, Salo P, Kahonen M et al. Cardiovascular risk factors from childhood and midlife cognitive performance: the Young Finns study. *J Am Coll Cardiol* 2017; 69: 2279 - 2289.
7. Guariguata L, Whiting D, Weil C, Unwin N. The International Diabetes Federation diabetes atlas methodology for estimating global and national prevalence of diabetes in adults. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 94 [3]: 322 - 332.
8. Organización Mundial de la Salud. The Global Health Observatory. Mean Total Cholesterol [consultado 05 de agosto de 2022]. Disponible en: [https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/mean-total-cholesterol-\(crude-estimate\)](https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/mean-total-cholesterol-(crude-estimate)).
9. Ministerio de Salud de la Nación. Nutrición y Embarazo. Recomendaciones en Nutrición para los equipos de salud. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. [consultado 18 de abril de 2022]. Disponible en <https://www.ms.gba.gov.ar/sitios/tocoginecologia/files/2014/02/A2a-Nutric.y-embarazo-Recomendaciones.pdf>
10. Organización Mundial de la Salud. Centro de Prensa. Obesidad y sobrepeso. [consultado 18 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
11. Centro para el control y la prevención de enfermedades. Índice de masa corporal para niños y adolescentes [consultado 15 de julio de 2022]. Disponible en https://www.cdc.gov/healthyweight/spanish/assessing/bmi/childrens_bmi/acerca_indice_masa_corporal_ninos_adolescentes.html
12. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the primary prevention of cardiovascular disease: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2019; 74 [10]: 1376 - 1414.
13. D. de Ferranti S, Steinberger C, Ameduri R, Baker A, Gooding H, Kelly A, et al. Cardiovascular Risk Reduction in High-Risk Pediatric Patients: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation* 139 [13]: 603 - 634.
14. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2022 abridged for primary care providers. *Clin Diabetes* 2022; 40 [1]: 10 - 38. [consultado el 15 de julio de 2022]; Disponible en: <https://diabetesjournals.org/clinical/article/40/1/10/139035/Standards-of-Medical-Care-in-Diabetes-2022>
15. Recomendaciones para la práctica del control preconcepcional prenatal y puerperal. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Ministerio de la Salud Argentina [consultado 10 de julio de 2022]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000158cnt-g02.control-prenatal.pdf>.
16. Interpretación y uso de las nuevas tablas de referencia de presión arterial para niños, niñas y adolescentes. Programa Nacional de Salud Escolar (PROSANE). Ministerio de Salud de la Nación Argentina

- 2020 [consultado 5 de julio de 2022]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2021-04/interpretacion-uso-nuevas-tablas-referencia-de-presion-arterial-prosane-2020.pdf>.
17. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults [adult treatment panel III]. *JAMA* 2001; 285 (19): 2486 - 2497 [consultado el 2 de julio de 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11368702>.
 18. Pagano M y Gauvreau A. *Fundamentos de Bioestadística*. 2ª ed. International Thomson Editores SA. 2001.
 19. Abrams B, Altman SL, Pickett KE. Pregnancy weight gain: still controversial. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (5): 1233 - 1241.
 20. Gutiérrez-Ramírez J, Díaz-Montiel J, Santamaría-Benhumea A, Sil-Jaimes P, Mendieta-Zerón H, Herrera Villalobos J. Asociación de factores de riesgo de preeclampsia en mujeres mexiquenses. *Rev Nac* 2016; 8 (1): 33 - 42.
 21. Alvarez-Ponce VA, Martos-Benítez FD. El sobrepeso y la obesidad como factores de riesgo para la preeclampsia. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*. 2017; 43 (2): 1 - 11.
 22. Consenso sobre factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Obesidad. *Arch Argent Pediatr*. 2005; 103 (3): 262 - 281.
 23. Nègre V. Early assessment of overweight for preventing obesity. *Rev Prat*. 2015; 65 (10): 1264 - 1269.
 24. Wen LM, Baur LA, Simpson JM, Xu H, Hayes AJ, Hardy LL, et al. Sustainability of Effects of an Early Childhood Obesity Prevention Trial Over Time: A Further 3-Year Follow-up of the Healthy Beginnings Trial. *JAMA Pediatr* 2015; 169 (6): 543-551.
 25. Janssen I, Katzmarzyk PT, Boyce WF, Vereecken C, Mulvihill C, Roberts C, et al. Comparison of overweight and obesity prevalence in school-aged youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary patterns. *Obes Rev* 2005; 6 (2): 123 - 132.
 26. Castiñeiras T, Díaz N, Méndez-Suárez M, Hábitos alimentarios, obesidad y sobrepeso en adolescentes de un centro escolar mixto. *Rev Ciencias Médicas* 2019; 23 (1): 99 - 107.
 27. Reyes VA, Moreira PO, Reyes MD, Velásquez VK. Síndrome metabólico y factores de riesgo en adolescentes de la Unidad Educativa 29 de Agosto, período lectivo 2017 - 2018. *Recimundo* 2021; 5 (1): 129 - 140.

REVISIÓN

Biología aplicada al diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Avances en biofármacos, bioterapias y biomarcadores. Parte 2

Biotechnology applied to the diagnosis and treatment of osteoporosis. Advances in biopharmaceuticals, biotherapies and biomarkers. Part 2

Carlucci, Adriana Mónica^{1,2}; Bentivegna, Silvina²; Fracalossi Martínez, Ornella²; Pedernera, Santiago²; Scibilia, María Agustina²; Tamburini Glas, Florencia²; Sterin Prync, Aída Edith^{2*}

¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

²Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Sterin Prync, Aída Edith. Potosí 4234, C1199ACL, Ciudad de Buenos Aires, Argentina; aida.sterin@hospitalitaliano.org.ar.

Resumen

Introducción: La osteoporosis constituye un problema sanitario tanto por su morbilidad y mortalidad como por los costos aparejados. Los avances provenientes de la biología bioquímica - farmacéutica buscan aportar mejoras significativas tanto en el diagnóstico como en el tratamiento. **Objetivos:** Recopilar y revisar la bibliografía científica sobre los hallazgos relacionados con técnicas diagnósticas, biofármacos, bioterapias y biomarcadores de osteoporosis disponibles o en ensayos clínicos. **Materiales y Métodos:** Se efectuó una revisión de la literatura usando las palabras clave: osteoporosis, *monoclonal antibodies*, *biopharmaceuticals*, *biotherapies*, y *biomarkers* en Pubmed, Scielo, Lilacs BVS y Google Scholar. Se analizaron 82 trabajos en inglés o español, del período 2014 - 2019, relacionados con biofármacos, bioterapias o biomarcadores usados para osteoporosis. **Resultados:** Existen 3 biofármacos aprobados (teriparatide, denosumab y rosozumab) y uno (blosozumab) en fase 2 clínica. De las bioterapias, el uso de células madre mesenquimales resultó la más promisoria, aunque con limitaciones. También existen moléculas indicadoras de formación/resorción ósea como biomarcadores, y hay otras nuevas como microRNA. **Conclusión:** La biología bioquímica - farmacéutica participa activamente de la búsqueda de nuevas y mejores alternativas para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la osteoporosis.

Palabras clave: osteoporosis, anticuerpos monoclonales, biofármacos, bioterapias, biomarcadores.

Abstract

Introduction: Osteoporosis constitutes a health problem not only due to its morbidity and mortality, but also due to the associated costs. The advances made in biochemical-pharmaceutical biotechnology are seeking to provide significant improvements in both the diagnosis and treatment of osteoporosis. **Objectives:** To compile and review the scientific literature on the findings related to diagnostic techniques, biopharmaceuticals, biotherapies and biomarkers of osteoporosis available or in clinical trials. **Materials and Methods:** A literature review in which the keywords were: osteoporosis, monoclonal antibodies, biopharmaceuticals, biotherapies, and biomarkers, was carried out in Pubmed, Scielo, Lilacs BVS and Google Scholar. A total of 82 papers in both English and Spanish, published between 2014 and 2019, related to biopharmaceuticals, biotherapies or biomarkers used for osteoporosis were analyzed. **Results:** There are three approved biopharmaceuticals (Teriparatide, Denosumab and Rosozumab) and one (Blosozumab) in clinical phase 2. Of the biotherapies, the use of mesenchymal stem cells was found to be the most promising, although with limitations. Among biomarkers, there are indicator molecules of bone formation/resorption, and new ones as microRNAs. **Conclusions:** Biochemical-pharmaceutical biotechnology actively participates in the search for new and better alternatives for the diagnosis, monitoring and treatment of osteoporosis.

Key words: Osteoporosis, monoclonal antibodies, biopharmaceuticals, biotherapies, biomarkers.

Introducción

La osteoporosis (OP) se define como “una enfermedad esquelética caracterizada por una resistencia ósea disminuida que predispone a un aumento en el riesgo de fracturas”. La resistencia ósea refleja la integración entre la densidad y la calidad ósea. La densidad ósea está determinada por el valor máximo de masa y la calidad ósea depende de la arquitectura, el recambio óseo, la acumulación de microlesiones y la mineralización. La regla de oro para estimar clínicamente la fuerza ósea consiste en medir la densidad mineral ósea (DMO) por absorciometría, con rayos X de doble energía (DEXA) enfocándose, en general, en la cadera y la zona lumbar. Esta metodología diagnóstica permite, además, predecir el riesgo de fractura del paciente y monitorizar la efectividad de su tratamiento.

La definición operacional de osteoporosis propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) involucra la presencia de una DMO de 2,5 desvíos estándar (DS) o más por debajo del valor promedio para mujeres jóvenes sanas posmenopáusicas y hombres de 50 años o más. De acuerdo con esto, un T-score < -2,5 DS equivale a osteoporosis, un T-score mayor que -1,0 DS denota una DMO normal, mientras que un T-score entre -1,0 y -2,5 DS indica osteopenia.

La OP afecta anualmente a 200 millones de personas en todo el mundo causando alrededor de 8,9 millones de fracturas. Estas son una importante causa de morbilidad y mortalidad y tuvieron un impacto económico en la Unión Europea (2010) de 40 billones de dólares y, en Estados Unidos, de 20 billones en 2015. Se ha estimado que la situación actual de Latinoamérica se asemeja a la europea. Por otro lado, cabe destacar que existen varias guías de práctica clínica consensuadas para el diagnóstico y tratamiento de la OP.

Los mecanismos de formación ósea constan básicamente de tres pasos:

- Los osteoblastos entregan una nueva matriz extracelular proteica (osteoide);
- En un tiempo de semanas a meses, se mineraliza (se forman cristales de hidroxapatita en las fibrillas de colágeno);
- Por último, se mantiene la integridad del esqueleto a través de la unidad de remodelación ósea; que comprende resorción (mediada por los osteoclastos) y formación de hueso existente (mediada por osteoblastos).

En OP se observa un aumento de la expansión de los osteoclastos junto con diferenciación inadecuada, disminución de actividad y aumento de la apoptosis de los osteoblastos.

En esta revisión, se presentarán algunas de las opciones diagnósticas y terapéuticas que la biotecnología ha ofrecido para la OP, especialmente en mujeres posmenopáusicas (OPMM).

Materiales y Métodos

Se efectuó una revisión de la literatura buscando artículos de relevancia sobre productos biofarmacéuticos, bioterapias y/o biomarcadores aprobados o en instancias clínicas, destinados a OP. La búsqueda se realizó utilizando como palabras clave: i) osteoporosis *and monoclonal antibodies*; ii) osteoporosis

and biopharmaceuticals and biotherapies and biomarkers; iii) osteoporosis *and monoclonal antibodies and Biotherapies and biomarkers*. y se llevó a cabo en las bases de datos de MEDLINE/Pubmed, Scielo (Scientific Electronic Library Online), Lilacs BVS y Google Scholar.

Los criterios de inclusión usados fueron: i) solo artículos en idioma inglés o español; ii) publicados entre 2014 y 30 de junio de 2019; iii) que se trataran de una revisión sistemática o de un artículo original de interés que cubriera alguno de los aportes mencionados de la biotecnología o que abarcaran desde ciencias básicas hasta estudios clínicos.

Los criterios de exclusión fueron: i) existencia de patología concomitante; ii) administración concomitante de suplementos dietarios, compuestos/mezclas químicas o fármacos convencionales no aprobados para OP o con efectos en las vías de señalización del tejido óseo.

Después de seleccionar los artículos definitivos, se procedió a describir sus hallazgos más importantes de forma cualitativa. Finalmente, se analizaron 82 artículos científicos.

Resultados

Biofármacos

El primer biofármaco aprobado fue teriparatide, un análogo recombinante humano de la fracción 1-34 de PTH que incentiva la formación de hueso nuevo en las superficies óseas trabeculares y corticales (periósticas y/o endósticas) por estimulación preferencial de la actividad osteoblástica sobre la osteoclastica. Desde 2002, está indicado para el tratamiento de la OPMM con alto riesgo de fractura. En 2003, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA) estableció un estudio de vigilancia para osteosarcoma como compromiso de poscomercialización, para evaluar una potencial asociación con este tumor, teniendo en cuenta los resultados preclínicos observados; a los 7 años del estudio no se detectó un patrón indicativo de asociación entre el tratamiento con este biofármaco y la aparición de osteosarcomas en humanos.

El segundo tipo de biofármacos aprobados son los anticuerpos monoclonales (mAb), que pueden ser de diverso origen y, por ende, tener diferencias con respecto a la estructura de la inmunoglobulina, la eficacia de su uso y los efectos adversos asociados a su utilización. Hay de tipo murino, quimérico, humanizado o humano. Esto se encuentra indicado en el nombre del anticuerpo, que se compone de un nombre de fantasía escogido por el fabricante, un prefijo que señala el blanco terapéutico, un fragmento que indica el origen de la inmunoglobulina y el sufijo *-mab*.

Su actividad biológica está íntimamente relacionada con su estabilidad estructural, de conformación y química, y, aunque su desarrollo y aprobación representen un gran desafío, existen algunos ya comercializados y otros en fases clínicas para el tratamiento de la osteoporosis.

Denosumab (Prolia®)

Es un mAb humano de tipo IgG2, indicado para tratar por vía

Figura 1. Control de la actividad de los osteoclastos.

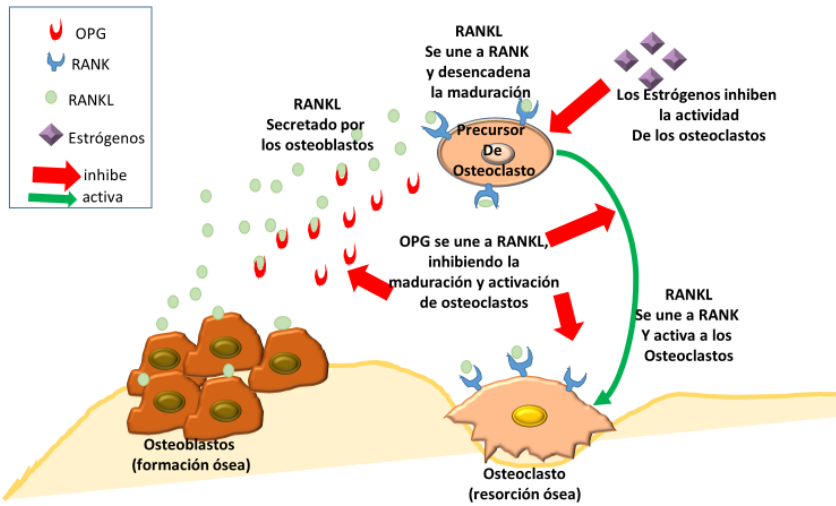


Figura 2. Funciones que desencadena la unión de la hormona PTH a su receptor en los osteoblastos.

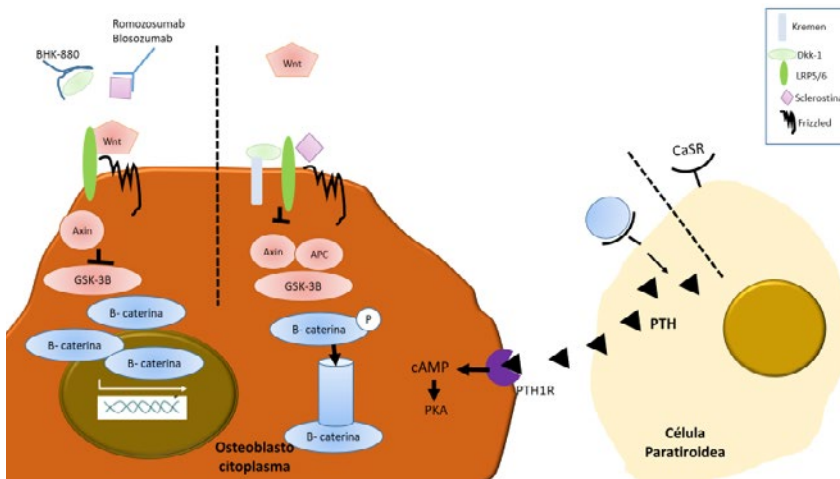
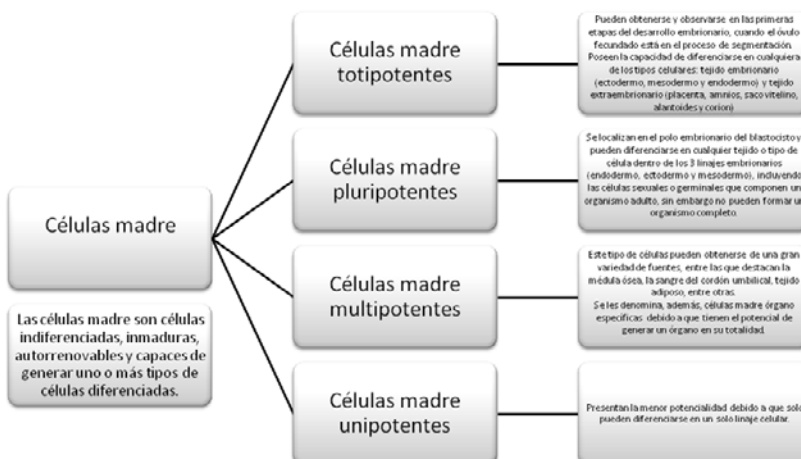


Figura 3. Tipos, localización y capacidad de diferenciación de los distintos tipos de células madre⁵³.

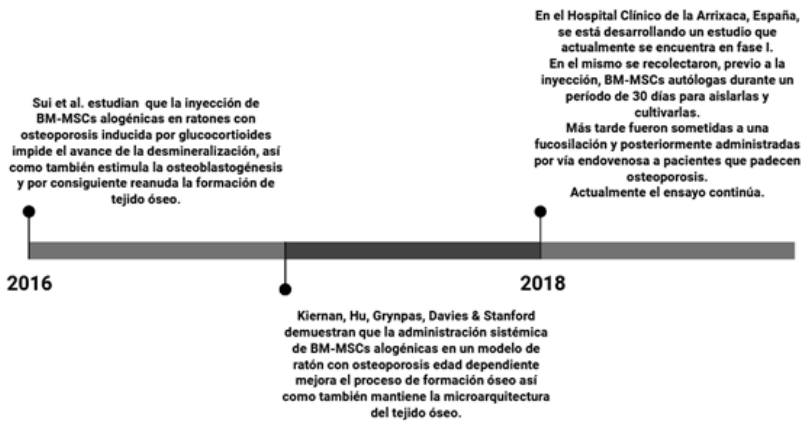


subcutánea (SC) casos de OPMM. Ejerce su acción contra el activador del receptor RANK (del inglés, *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B*). Tanto RANKL (como el ligando del receptor RANK) y el factor estimulante de colonias de macrófagos son mediados por osteoblastos y regulan el reclutamiento y diferenciación de osteoclastos¹⁷⁻¹⁹. El denosumab, al bloquear la interacción RANKL/RANK, inhibe la formación, función y supervivencia de los osteoclastos, con una consecuente disminución en la resorción ósea del hueso trabecular y cortical. Fisiológicamente, la osteoprotegerina (OPG) es un receptor señuelo soluble que se une a RANKL y bloquea la activación del receptor RANK preservando así el esqueleto de la resorción extrema¹⁴ (Figura 1). En la figura, se grafica la interacción entre el receptor activador del ligando del factor nuclear- κ B (RANK) y la osteoprotegerina (OPG) en la actividad de los osteoclastos¹⁸.

Varios estudios clínicos sustentan la efectividad del denosumab. En el ensayo clínico FREEDOM (*Fracture reduction evaluation of Denosumab in osteoporosis every 6 months*), se evaluó su eficacia y seguridad hasta por 10 años de tratamiento, con administraciones cada 6 meses. Cuatro mil quinientas cincuenta mujeres participaron y, en el grupo tratado, la DMO ganó 13,7 % en la columna lumbar y 4,0 % en la cadera luego de 5 años de tratamiento. En un estudio de fase II, denosumab se administró hasta por 8 años en mujeres posmenopáusicas de baja DMO, con consecuentes aumentos de 16,5 % y de 6,8 % en las mismas regiones, respectivamente.

Las pacientes tratadas en ensayos clínicos con Prolia® registraron una disminución en los marcadores de resorción ósea de los telopéptidos carboxiterminales del colágeno tipo I (CTX) en suero de un 85 % a los tres días, que se mantuvo durante el intervalo de administración. Al final de cada intervalo de administración, la disminución del CTX se atenuó desde ≥ 87 % hasta aproximadamente ≥ 45 % (intervalo 45 - 80 %) y dejó en evidencia una propiedad muy importante del biofármaco. No se han observado anticuerpos neutralizantes contra denosumab

Figura 4. Experiencias de ensayos clínicos con MSC derivadas de médula ósea [BM-MSc].



(Prolia®), y se redujo significativamente el riesgo de fracturas vertebrales, no vertebrales y de cadera, además de reportarse menos riesgo asociado de fracturas femorales atípicas y presentarse osteonecrosis de mandíbula en el 1,8 % de los pacientes a los tres años.

Finalmente, se llevó a cabo un ensayo de fase 3 para estudiar la eficacia y seguridad contra fracturas, con la administración de denosumab en la dosis acordada para caucásicos (60 mg cada 6 meses), en 1262 hombres y mujeres japoneses con osteoporosis, mayores de 50 años, con resultados exitosos.

Más recientemente, algunos estudios sugirieron que terapatide es capaz de ejercer su actividad biológica aun cuando la renovación ósea está completamente suprimida por el tratamiento con denosumab. La terapia combinada se asoció con aumentos significativos de la esclerostina [SOST] y de la proteína 1 relacionada con Dickkopf [DKK1].

Anticuerpos antiesclerostina

La esclerostina [glicoproteína secretada por los osteocitos] disminuye la formación de hueso nuevo al antagonizar la unión del ligando Wnt al receptor Frizzled (FZD) y los correceptores LRP5/6, que motivan la vía canónica de Wnt/ β -catenina conduciendo a la fosforilación de LRP5/6 y la unión de la axina al complejo de receptores¹⁷, e inhibiendo los receptores LRP4–6 en los osteoblastos²⁸⁻³⁰.

La β -catenina se transloca al núcleo e interactúa con factores de transcripción TCF/Lef-1¹⁷, activando genes promotores que favorecen la osteogénesis y con ello, el aumento de la masa ósea. Esta vía promueve la diferenciación de células madre mesenquimales al linaje de osteoblastos y motiva la secreción de OPG (Figura 2). En la Figura 2, se esquematiza de qué manera la unión de PTH al receptor mejora las funciones de los osteoblastos. La presencia de antagonistas de Wnt - DKK-1 y esclerostina inhibe la señalización. El DKK-1 se necesita para formar complejo con Kremen y, posteriormente, se une a LRP5/6, mientras que la esclerostina se une directamente a LRP5/6. Después de neutralizar el DKK-1 y la esclerostina, el Wnt puede unirse al LRP5/6, lo que resulta en la degradación de GSK-3. Como consecuencia, la β -catenina es estabilizada, se acumula y se transloca al núcleo donde regula la transcripción de genes osteoblásticos³⁰.

Cuando el complejo con esclerostina está presente en el medio, GSK-3 β degrada la β -catenina y hay menor acción anabólica en el nivel óseo. Se ha demostrado una asociación entre polimorfismos del promotor del gen SOST [que codifica la esclerostina] y la DMO, así como mecanismos epigénicos que, además de otros factores hormonales y mecánicos, influirían en la producción de esclerostina.

Una de las alternativas terapéuticas para OP, relacionada con la vía WNT

canónica y la esclerostina es el uso de anticuerpos monoclonales antiesclerostina [Scl-mAb]¹⁷: estos se unen a la glicoproteína y neutralizan su acción inhibitoria, de manera que la traslocación de β -catenina al núcleo se ve facilitada y hay mayor activación de genes osteogénicos. En este mecanismo, se basa el desarrollo de los Scl-mAb romosozumab [Amgen] y blosozumab [Eli Lilly]. La información general y resultados hallados en los ensayos clínicos respectivos se exponen en la Tabla I.

Es de destacar que romosozumab, en principio, no fue aprobado por la FDA ante la evidencia de un mayor riesgo de episodios graves de enfermedad cardiovascular, como se destaca en el estudio clínico ARCH, pero en julio de 2019, se aprobó para los casos de alto riesgo.

**Bioterapias
Células madre**

Una célula madre [o SC, de stem cell] es la que “es capaz de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos de células especializadas no solo morfológicamente, sino también de forma funcional”. Las células madre pueden clasificarse en totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales y unipotenciales.

La utilización de SC en OP resulta muy interesante por su capacidad de regeneración y plasticidad. La terapia basada en células tiene como fin revertir los efectos de disminución en el número y en la pérdida de la funcionalidad de las células madre mesenquimales [mesenchymal stem cells o MSC] contribuyendo así a aumentar la DMO.

En ensayos clínicos y preclínicos, se han empleado, además de MSC, células madre provenientes de embriones [embryonic stem cells o ESC], células madre pluripotencialmente inducidas [induced pluripotent stem cells o iPSC], y células madre provenientes del esqueleto [skeletal stem cells, SSC]. No obstante, las MSC son las más utilizadas en ensayos clínicos.

Las terapias regenerativas en el sistema musculoesquelético se basan en la aplicación adecuada de células, biomateriales y / o factores y van desde la

Tabla I. Resultados de ensayos clínicos para romosozumab y blosozumab

	Ensayos fase I	Ensayos fase II
Romosozumab (Amgen) Anticuerpo humanizado	Aumento dependiente de la dosis de los marcadores de formación ósea: osteocalcina, P1NP y BAP; disminución del marcador de resorción ósea CTX respecto de los valores basales.	<ol style="list-style-type: none"> 1) Aumento de DMO con respecto a grupos tratados con teriparatide o con alendronato. 2) FRAME (<i>Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis</i>): disminución de las nuevas fracturas vertebrales radiográficas clínicas en pacientes que recibieron 210 mg SC. A los 12 meses, se observaron reducciones mayores y más rápidas. 3) En comparación con el estudio FREEDOM de denosumab, los aumentos medios absolutos de la puntuación T en la columna vertebral y la cadera logrados en 2 años se aproximan al efecto de 7 años de administración continua de denosumab. 4) ARCH (<i>Active-Controlled Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis at High Risk</i>) con administración de 210 mg SC mensuales durante un año y posterior administración de alendronato vs. 70 mg de alendronato oral semanal durante los dos años, en OPMM de alto riesgo: disminuyó el riesgo de fractura en todos los sitios esqueléticos. Sin embargo, los valores de DMO disminuyeron al nivel previo al tratamiento cuando se interrumpió la administración.
Blosozumab (Eli Lilly) Anticuerpo humanizado	Incremento dependiente de la dosis de BAP y P1NP disminución de CTx, y aumento de la densidad de masa ósea .	Aumento de marcadores de formación ósea. Efectos adversos similares a los del grupo placebo. Aparición de anticuerpos antiblosozumab.

► Romosozumab (Amgen) anticuerpo humanizado,,,, ; blosozumab (Eli Lilly) anticuerpo humanizado,; BAP, fosfatasa alcalina ósea; P1NP, procolágeno sérico tipo I N-terminal; CTX, telopéptido C terminal de reticulación; OPMM, osteoporosis en mujeres posmenopáusicas.

inyección directa de aspirados concentrados o no procesados de sangre o médula ósea hasta la utilización de andamios naturales o sintéticos con células que se liberaron de tejidos autólogos y se propagaron bajo condiciones de una buena práctica de fabricación (por ejemplo, implantación de condrocitos autólogos)⁴³. Se han identificado 19 ensayos clínicos de este tipo hasta la fecha final de la revisión. En la Figura 3, se resumen los distintos tipos de células madre descritas, así como su localización y capacidad de diferenciación.

Células madre mesenquimales (MSC)

Las [MSC] son células multipotentes, presentes en prácticamente todos los tejidos: adiposo, muscular esquelético, hepático, pulmonar, dérmico y en médula ósea, placenta y cordón umbilical. En la Figura 4, se resumen experiencias de ensayos clínicos en los que se emplean MSC derivadas de médula ósea (BM-MSC), con sus avances más destacados en los últimos años.

El uso de MSC derivadas de adipocitos (AD-MSC) presenta ventajas comparativas respecto de las BM-MSC⁵⁴⁻⁵⁶. El estudio clínico suizo ROBUST evaluó la eficacia de las AD-MSC como componente osteogénico en injertos compuestos versus susti-

tutos de injerto óseo acelular, en el tratamiento de fracturas humerales proximales aisladas que se tomaron como modelo de fracturas de hueso osteoporótico. Se pudo verificar la viabilidad y seguridad de la fabricación e implantación del injerto, y las biopsias del tejido de reparación, después de hasta 12 meses, demostraron la formación de huesecillos óseos estructuralmente desconectados y morfológicamente distintos del hueso osteoconducido, lo que sugiere la naturaleza osteogénica de las células de la fracción vascular estromal (SVF) implantadas y demuestra que estas pueden formar espontáneamente tejido óseo y estructuras vasculares dentro de un entorno de fractura, sin expansión o cebado exógeno. Los conocimientos y resultados clínicos obtenidos justifican ensayos controlados más grandes.

Saito et al. propusieron usar un sobrenadante de extracto de jalea de Wharton como un nuevo activador para mejorar la habilidad regenerativa de las células BM-MSC en mujeres posmenopáusicas. En MSC derivadas de células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC), se observó que los exosomas secretados integran los beneficios de las MSC y las iPSC, sin demostrar inmunogenicidad. Estudios *in vitro* demuestran que exosomas hiPSC-MSC aumentan la proliferación celular y la ac-

Tabla II. Tipos de miRNA que intervienen en la formación ósea y diferenciación de las células madre mesenquimales⁶⁸⁻⁷²

microRNA	Función
miR-27a, miR-346 y miR-1423p	Regulan la vía Wnt/ β -catenina [aumento de la proliferación celular] y promueven la diferenciación osteogénica de las MSC.
miR-21	Incentiva la diferenciación de hUC-MSC a través de la vía fosfatidilinositol-3-kinasa/akt promoviendo la acumulación de β -catenina y la activación de Runx2 [factor de transcripción asociado a la diferenciación de los osteoblastos].
miR-138	Es un regulador negativo de la diferenciación de hUC-MSC.
miR-204	Posee actividad proadipocítica y antiosteoblástica en las MSC al prevenir la expresión de Runx2.

tividad de la enzima fosfatasa alcalina. Además, aumentan la producción de ARN mensajero y la expresión de proteínas de los genes relacionados con osteoblastos en BM-MSC derivadas de ratas ovariectomizadas (OVX). En ensayos *in vivo*, promueven la regeneración ósea y la angiogénesis en estadios críticos de deficiencia calvaria en ratas OVX.

En 2019, Laquinta et al. señalaron la necesidad de protocolos estandarizados para permitir la regulación de las condiciones de crecimiento de MSC durante la expansión *ex vivo* y evitar problemas relacionados con su diferenciación no deseada.

Otro desafío de la medicina regenerativa ósea es la liberación de las MSC en el lugar de la injuria ósea.

Moléculas relacionadas con genética/terapia génica

En el orden genético, el estudio *Genome-Wide Association Study* (GWAS) correlaciona las variantes genéticas halladas en el genoma con la DMO de la columna lumbar. Este parámetro fue medido volumétricamente en 15275 voluntarios utilizando tomografía computada cuantitativa. Se observó la localización de cinco loci que podrían poseer importancia clínica: WNT4, ZBTB40, TNFRSF11B, AKAP11y TNFSF11.

Alonso y colaboradores presentaron un estudio GWAS en el que la variación genética estaba asociada a la expresión cuantitativa de locus en biopsias óseas de crestas ilíacas. El hallazgo de un nuevo locus en el cromosoma 2q13, SN Prs10190845, fue asociado a fracturas vertebrales. Se ha propuesto el gen SL-C20A1 [codifica para proteínas de la familia de transportadores de fosfatodependientes de sodio 1, íntimamente relacionada con el metabolismo óseo] y el de la tubulina tirosina ligasa como candidatos posicionales de ese locus. El uso de bases de datos genómicas de estudios epidemiológicos avala que más de 10 genes poseen un efecto pleomórfico en múltiples fenotipos, es decir, un solo gen puede influir independientemente en más de un rasgo fenotípico.

Otro estudio que analizó la masa corporal magra total y la masa corporal magra total con excepción de la cabeza de 10414 niños permitió identificar factores genéticos con efectos pleomórficos en la masa magra y la DMO. Ocho genes presentaron una buena correlación entre estos factores; de ellos, el gen SREBF1 es uno de los más importantes.

Biomarcadores

Entre los marcadores bioquímicos disponibles para medir la renovación ósea, se han recomendado las mediciones de péptido de colágeno tipo 1 (PINP), CTX y fosfatasa alcalina ósea (BAP) como marcadores de referencia de formación y resorción ósea, respectivamente. Pero entre sus limitaciones, figuran la falta de especificidad para el tejido óseo y la incapacidad para reflejar la actividad de los osteocitos o el metabolismo perióstico. De la búsqueda constante de nuevos biomarcadores, resultaron interesantes: periostina, esclerostina y esfingosina 1-fosfato.

Un hallazgo prometedor reciente da cuenta de que los niveles séricos de esclerostina son más altos en pacientes con alta DMO. Esto sugiere que sería un marcador relevante de osteocitos maduros.

Los biomarcadores son fundamentales a la hora de optimizar la terapia teniendo en cuenta los antecedentes de los pacientes. Así, por ejemplo, la interrupción de la terapia con denosumab es seguida por un aumento transitorio de los marcadores de recambio óseo por encima de los valores previos al tratamiento, junto con la pérdida ósea acelerada.

Apelando a tecnologías innovadoras, estudios recientes sugieren que las mediciones de microARN circulantes, una nueva clase de marcador, podrían representar marcadores biológicos tempranos en la osteoporosis. Wang et al. observaron diferencias significativas en los niveles de expresión del miR-133a, entre pacientes con diferentes valores de DMO. Un análisis de *microarrays* posterior en linfocitos mononucleares circulantes reveló que los niveles de expresión de miR-133a fueron mayores en pacientes con baja DMO respecto de aquellos con DMO alta. En este mismo estudio, a través de un análisis bioinformático de genes blanco, se detectaron tres potenciales genes relacionados con osteoclastos: CXCL11, CXCR3 y SLC39A1 de miR-133a, que podrían ser considerados también como posibles biomarcadores.

En otro análisis matricial de miRNA de precursores osteoclastos de pacientes con baja y alta DMO, se vio un aumento comparativo de miR-422a en los primeros utilizando qRT-PCR [PCR de transcripción reversa cuantitativa, *Quantitative Reverse Transcription PCR*].

Tabla III. Nuevas vías de señalización en la vía anabólica de la paratohormona.

Osteoblastos, osteocitos y osteoclastos	Vía Wnt canónica	Acción anabólica de PTH
TGIF1 promueve la diferenciación de osteoblastos y es requerido para la activación completa de la remodelación ósea en osteoblastos maduros y osteocitos. La deficiencia de TGIF1 aumenta la expresión de la molécula señalizadora de osteoblastos-osteoclastos, Sema3E, y conduce a una inhibición de la diferenciación de osteoclastos (disminuye la resorción ósea).	El gen TGIF1 es un <i>target</i> de la vía Wnt canónica, mediado por señalización β -catenina-Tcf/Lef. La deficiencia de TGIF1 en el hueso no altera la señalización Wnt canónica; la proteína es prescindible para la ganancia de masa ósea inducida por Wnt.	PTH induce la expresión de TGIF1 a través de la señalización AP1 (PTHR1-PKA-pCREB-AP1). PTH aumenta la masa ósea de una manera dependiente de TGIF1. TGIF1 en osteoblastos maduros y osteocitos es necesario para la completa inhibición de la expresión de esclerostina mediada por PTH. TGIF1 podría contribuir al control de la expresión de esclerostina en osteocitos de manera indirecta, participando en la represión de la transcripción de Mef2c (factor de transcripción que controla la actividad de un <i>enhancer</i> distante del gen SOST); en respuesta al tratamiento con PTH, suprimió la expresión de ARNm de Mef2c y la abundancia de proteínas en un grado mucho menor en células deficientes en TGIF1 en comparación con controles.

► Relación de TGIF1 con los osteoblastos, osteocitos, osteoclastos, la señalización de la vía Wnt canónica y la acción anabólica de la PTH, encontrada por Saito et al., PTH, paratohormona; TGIF1, proteína homeótica.

Meng et al.⁶² identificaron miR-194-5p como un potencial biomarcador en OPMM, ya que está aumentado en varios mecanismos relacionados con OP; la identificación se hizo por *microarrays* en muestras de sangre de pacientes con osteopenia y OP. En la Tabla II, se presentan diferentes tipos de miRNA capaces de intervenir en la formación ósea y diferenciación de las células madre.

Finalmente, varios factores de transcripción como Runx2/Cbfa1 y Osterix fueron identificados como reguladores clave para la diferenciación osteoblástica. Se ha observado que su ausencia resulta en una completa falta de esqueleto mineralizado. Muchos otros factores de transcripción son considerados importantes en la diferenciación y preservación de osteoblastos como las proteínas homeobox, miembros de la familia AP1, o efectores de la β -catenina/vía de señalización Wnt.

Nuevos hallazgos

En la Tabla III se resumen las experiencias realizadas en relación con el estudio de dos nuevas proteínas, TGIF1 (Factor 1 interactuante-TG) y Clec11a, de relevantes funciones en vías de señalización claves de la osteogénesis. TGIF1 fue identificado por secuenciación de ARN en células estromales de médula ósea de ratón como la proteína homeodominio más abundantemente expresada. La relación que los autores encontraron entre la misma y los osteoblastos, osteocitos, osteoclastos, la señalización de la vía Wnt canónica y la acción anabólica de la PTH se expone en la Tabla III.

Clec11a, una glicoproteína sulfatada secretada por subconjuntos de células estromales, osteoblastos, osteocitos y condrocitos hipertróficos, promueve la osteogénesis en la médula ósea, es una lectina de tipo C dominio familiar 11, miembro A y

un factor de crecimiento hematopoyético que se expresa también en tejidos esqueléticos. A su vez, Clec11a está estrechamente relacionada con Clec3b/Tetranectina (cuya expresión está relacionada con la mineralización). Utilizando ratones Clec 11a +/- y ratones Clec 11a +/- como grupo control y ratones Clec 11a -/- como grupo estudio, Yue et al. llevaron a cabo distintas experiencias para determinar el rol de la proteína en el proceso de osteogénesis. En la Tabla IV, se resumen los diseños experimentales, resultados y conclusiones de dichos ensayos.

Discusión

La biotecnología aplicada a la salud hoy es una actividad transdisciplinaria donde convergen disciplinas tan variadas como bioinformática, biología molecular, bioquímica, biofísica, incluidos los aspectos regulatorios actuales de las mismas. En el presente trabajo, se aplica su estado de arte al diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la OP.

Dentro de los biofármacos desarrollados para la OP, se encuentra, por un lado, el péptido recombinante humano PTH 1-34 (teriparatida), primer anabólico óseo aprobado en 2002, que estimula la formación de hueso a través de la inhibición de la esclerostina, DKK1 y la proteína Frizzled; aumenta la DMO; mejora la microarquitectura y disminuye las fracturas. Por otro lado, se encuentran los anticuerpos monoclonales: el denosumab, aprobado desde 2010, que se une específicamente a RANK bloqueando la unión a su ligando, lo que reduce notablemente la resorción ósea, aumenta la densidad ósea y reduce las fracturas, y los anticuerpos anti-esclerostina (romosozumab, blosozumab), que aumentan la masa ósea al neutralizar los efectos negativos de la esclerostina en la vía de señalización de Wnt. Hasta el momento, romosozumab fue aprobado

Tabla IV. Diseños experimentales de la acción de Clec 11a en osteogénesis, resultados y conclusiones.

Tipo de ensayo	Diseño experimental	Resultados	Conclusiones
<i>In vivo</i>	Evaluación de la modificación de indicadores de estado óseo en ratones control y ratones Clec 11a -/- con el paso del tiempo.	Menor volumen trabecular óseo y mayor propensión a fracturas en ratones Clec 11a -/- que en control. Menor mineralización ósea; marcadores de resorción sin alteraciones.	Clec 11a es necesaria para el mantenimiento de hueso vertebral y de las extremidades. Clec 11a está involucrada en procesos de formación del hueso, pero no, de su resorción.
<i>In vitro</i>	Cultivo de UFC-F control y Clec 11a -/- en condiciones osteogénicas, adipogénicas y condrogénicas.	Menor diferenciación de progenitores mesenquimales de médula ósea a osteoblastos maduros a partir de UFC-F Clec 11a -/- que en control (condiciones osteogénicas). Sin diferencias entre grupos en condiciones adipogénicas y condrogénicas.	Clec 11a es necesaria para la diferenciación de progenitores mesenquimales de la médula ósea en osteoblastos maduros.
<i>In vivo</i>	Cultivo de UFC-F de ambos grupos, transferencia de las mismas a esponjas de colágeno y posterior implante subcutáneo a otros ratones.	Luego de 8 semanas, los huesecillos obtenidos a partir de CFU-F Clec 11a -/- tenían menor masa que la del grupo control.	Clec 11a es necesaria para la diferenciación de progenitores mesenquimales de la médula ósea en osteoblastos maduros.
<i>In vivo</i>	Administración subcutánea de rClec 11a a ratones de tipo silvestre por 28 días.	Aumento del volumen trabecular óseo en las metáfisis distales del fémur, de forma dependiente de la dosis.	Clec 11a está involucrada en procesos de formación del hueso.
<i>In vivo</i>	Administración de PTH o rClec11a a ratones ovariectomizados. Administración de PTH o rClec 11a a ratones con osteoporosis inducida por dexametasona.	Aumento del volumen óseo trabecular, número trabecular y disminución en el espaciado trabecular en ambos grupos. Sin modificación de marcadores de resorción ósea.	La administración de rClec 11a previene la pérdida de hueso trabecular en ratones ovariectomizados o con osteoporosis inducida por dexametasona a través de la promoción de la formación ósea.
<i>In vivo</i>	Inducción de osteoporosis por ovariectomía a ratones de tipo silvestre, de 2 meses de edad. Luego de 4 semanas, administración de rClec 11a.	Aumento de volumen trabecular óseo y disminución de espacio trabecular respecto de ratones ovariectomizados no tratados.	Clec 11a puede revertir la pérdida de hueso trabecular luego de la inducción de osteoporosis a través de una ovariectomía.
<i>In vivo</i>	Transplante subcutáneo de una suspensión de células de estroma de médula ósea humana, partículas de hidroxiapatita/fosfato tricálcico y gel de fibrina a ratones NSG inmunocomprometidos y administración diaria de inyecciones subcutáneas de rhClec11a o vehículo durante 4 u 8 semanas	Promoción de la osteogénesis a partir de células estromales de médula ósea humana <i>in vivo</i> .	rhClec11a aceleró y aumentó significativamente la formación de hueso en los osículos.

► Ensayos realizados por Yue et al. para estudiar el rol de rClec 11a (Clec 11a recombinante) en la osteogénesis. 61 UFC-F (unidades formadoras de colonias de fibroblastos)

en abril de 2019, solo en Estados Unidos debido a la alta incidencia de efectos cardiovasculares adversos demostrados, y su uso se recomienda solo para pacientes con alto riesgo de fracturas, mientras que blosozumab está siendo estudiado actualmente en fase 2.

En cuanto a las bioterapias, podemos afirmar que se superó la “prueba de concepto” para su inclusión en el arsenal terapéutico, así como también el uso de preparaciones y procedimientos para mejorar la extracción, cultivo y aplicación de las células seleccionadas al paciente. Resta consensuar proto-

colos para mejorar la implantación celular o del andamio y la seguridad global del procedimiento.

En cuanto a lo referido a las estructuras genéticas estudiadas hasta la actualidad, los miRNA, aparecen como moléculas interesantes para ser usadas más como biomarcadores que como terapia. Es importante destacar también las variantes genéticas halladas en el genoma relacionadas con la DM0.

En lo concerniente a biomarcadores, la determinación en plasma de PINP, CTX y BAP sigue siendo la regla de oro, pero con limitaciones de especificidad, incapacidad para reflejar

actividad osteocítica y, sobre todo, para estimar riesgo de fracturas óseas. Nuevos biomarcadores como, por ejemplo, la esclerostina, podrían superar algunas de esas limitaciones. La esclerostina, parecería ser el contacto entre el esqueleto y el tejido adiposo de la médula ósea (MAT) al actuar como factor endócrino que promueve la diferenciación de las MSC hacia el linaje adipogénico en lugar del osteogénico dentro de la médula ósea. Tal como hemos descrito en la *Parte 1* de estas dos revisiones, MAT es uno de los biomarcadores que también se están proponiendo para el diagnóstico y seguimiento de la OP, por lo que sería importante seguir el avance de las investigaciones en esta vía de regulación. Dentro también de los nuevos marcadores, se señalaron los siguientes miRNA: miR-133a, miR422a y miR 194-5p. y varios factores de transcripción están siendo evaluados con el mismo objetivo.

Es en este contexto, el presente trabajo demuestra la importancia de la transdisciplinariedad, que incluye la biotecnología para abordar un problema de salud pública y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Susana Llesuy y al Dr. Miguel Ángel De Cristóforo, por su apoyo y colaboración en la corrección de este artículo.

La revisión fue realizada en la asignatura Biotecnología y Biotecnología Farmacéutica del último año de las carreras de Bioquímica y Farmacia del Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

- Klibanski A, Adams-Campbell L, Bassford T, Blair SN, Boden SD, Dickersin K, et al. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *J Amer Med Assoc.* 2001; 285(6), 785-95.
- Álvarez Álvarez, Mendoza Garcés RF, Torre Mollinedo F, Callejo Orcasitas A, Arizaga Maguregui A. Actualización en el tratamiento de la osteoporosis. Manejo desde una unidad del dolor [1.a parte] *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2014; 21: 328-37.
- Mahla RS. Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics. Vol. 2016, *International Journal of Cell Biology.* Hindawi Limited; 2016.
- Phetfong J, Sanvoranart T, Nartprayut K, Nimsanor N, Seenprachawong K, Prachayasittikul V, et al. Osteoporosis: The current status of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Biol Lett* 2016 ;21:42.
- IOF Compendium of Osteoporosis, International Osteoporosis Foundation. [Internet]. Disponible en: <https://www.osteoporosis.foundation/sites/IOFbonehealth/files/2020-01/IOF-Compendium-of-Osteoporosis-web-V02.pdf>
- Sosa- Henríquez M, Gómez de Tejada Romero M. La fractura de cadera en Latinoamérica. ¿Se está aproximando a la experiencia europea de los últimos años?. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2018;10(2):61-62.
- Garcés FM, Álvarez Álvarez R, Mollinedo FT, Orcasitas AC, Maguregui AA. Actualización en el tratamiento de la osteoporosis: algoritmo de decisión. Manejo desde una unidad del dolor [2.a parte] *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2015; .22(2) 73-9.
- Aghebati-Maleki L, Dolati S, Zandi R, Fotouhi A, Ahmadi M, Aghebati A, et al. Prospect of mesenchymal stem cells in therapy of osteoporosis: A review. *J Cell Physiol* 2019;234(6):8570-8578.
- Manolagas, SC. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2000;21(2):115-37
- Curtis EM, Moon ARJ, Dennison EM, Harvey NC, Cooper C. Recent advances in the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Clinical Med (Lond)* 2015;15: s92-6.
- Manhard MK, Nyman JS, Does MD. Advances in imaging approaches to fracture risk evaluation. *Transl Res* 2017;181:1-14.
- Pino AM, Rosen CJ, Pablo Rodríguez J. In Osteoporosis, differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) improves bone marrow adipogenesis. *Biol Res.* 2012;45(3):279-87.
- Andrews EB, Gilsenan AW, Midkiff K, Sherrill B, Wu Y, Mann BH, et al. The US postmarketing surveillance study of adult osteosarcoma and teriparatide: Study design and findings from the first 7 years. *J Bone Miner Res.* 2012;27(12):2429-37.
- Carlucci AM, Olano M, Lavallaz L, Sanchez F, Rossi C, Sterin Prynck AE. Biotecnología aplicada a la salud: el caso de la Esclerosis Múltiple. *Parte 2. ByPC* 2019; 83(1):30-39.
- Geneva. Revised monoclonal antibody (mAb) nomenclature scheme Programme on International Nonproprietary Names (INN) Technologies Standards and Norms Regulation of Medicines and other Health Technologies (RHT) Essential Medicines and Health Products (EMP) World Health Organization, Geneva. 2017 Disponible en: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/international-nonproprietary-names-\(inn\)/revised-mab-nomenclature-scheme.pdf?sfvrsn=bb64a8b3_4&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/international-nonproprietary-names-(inn)/revised-mab-nomenclature-scheme.pdf?sfvrsn=bb64a8b3_4&download=true)
- Goswami S, Wang W, Arakawa T, Ohtake S. Developments and Challenges for mAb-Based Therapeutics. *Antibodies.* 2013 Aug 16;2(4):452-500
- Diab DL, Watts NB. Denosumab in osteoporosis. *Expert Opin Drug Saf.* 2014; 13(2):247-53.
- Morote J, Planas J. Pérdida de masa ósea en pacientes con cáncer de próstata sometidos a deprivación androgénica. *Actas Urológicas Españolas.* 2011;35(4):232-9.
- Miyazaki T, Tokimura F, Tanaka SA. Review of denosumab for the treatment of osteoporosis. *Patient Prefer Adherence* 2014;8:463-71.
- Capozzi A, Lello S, Pontecorvi A. The inhibition of RANK-ligand in the management of postmenopausal osteoporosis and related fractures: The role of denosumab. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(6):403-8.
- Pittman K, Antill YC, Goldrick A, Goh J, de Boer RH. Denosumab: Prevention and management of hypocalcemia, osteonecrosis of the jaw and atypical fractures. *Asia Pac J Clin Oncol* 2017; 13(4):266-76.
- Nakamura S, Tanaka S. Biological therapy for osteoporosis. *Clin Calcium.* 2014; 24(6):919-25.
- Idolazzi L, Rossini M, Viapiana O, Braga V, Fassio A, Benini C, et al. Teriparatide and denosumab combination therapy and skeletal metabolism. *Osteoporos Int.* 2016; 1;27(11):3301-7.
- Li X, Ominsky MS, Warmington KS, Morony S, Gong J, Cao J, et al. Sclerostin Antibody Treatment Increases Bone Formation, Bone Mass, and Bone Strength in a Rat Model of Postmenopausal Osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2009; 24(4):578-88.
- Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nature Medicine.* 2013; 19: 179-92.
- Sawa H, Korswagen HC. Wnt signaling in *C. elegans*. *WormBook.* 2013; 9 ;1-30.
- Kang S, Bennett CN, Gerin I, Rapp LA, Hankenson KD, MacDougald OA. Wnt signaling stimulates osteoblastogenesis of mesenchymal precursors by suppressing CCAAT/enhancer-binding protein and peroxisome proliferator-activated receptor . *J Biol Chem.* 2007; 11;282(19):14515-24.
- Manolagas SC. Wnt signaling and osteoporosis. *Maturitas.* 2014;78: 233-7.
- Glass DA, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell.* 2005; 8(5):751-64.
- Posada AF, Aguirre HD, Casallas JCG, Patiño JDL, Valle Oñate R. Nuevas terapias en osteoporosis. *Rev Colomb Reumatol.* 2016; 23:34-43.
- Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. Sclerostin and dickkopf-1 as thera-

- peutic targets in bone diseases. *Endocr Rev.* 2012; 33: 747–83.
32. Delgado-Calle J, Pérez-Campo FM, Riancho JA. Advances in the study of the mechanisms involved in the modulation of the expression of sclerostin in human cells. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2014; 6 (4): 103-8.
 33. Lipton A, Smith MR, Ellis GK, Goessl C. Treatment-induced bone loss and fractures in cancer patients undergoing hormone ablation therapy: Efficacy and safety of Denosumab. *Clin Med Insights Oncol* 2012;6:287-303.
 34. McCollm J, Hu L, Womack T, Tang CC, Chiang AY. Single- and Multiple-Dose Randomized Studies of Blosuzumab, a Monoclonal Antibody Against Sclerostin, in Healthy Postmenopausal Women. *J Bone Miner Res* 2014;29(4):935–43.
 35. Wang Z, Goh J, Das De S, Ge Z, Ouyang H, Chong JSW, et al. Efficacy of bone marrow-derived stem cells in strengthening osteoporotic bone in a rabbit model. *Tissue Eng.* 2006;12(7):1753–61.
 36. Liu Y, Wu J, Zhu Y, Han J. Therapeutic application of mesenchymal stem cells in bone and joint diseases. *Clin Exp Med* 2014; 14: 13–24.
 37. Steinert AF, Rackwitz L, Gilbert F, Nöth U, Tuan RS. Concise Review: The Clinical Application of Mesenchymal Stem Cells for Musculoskeletal Regeneration: Current Status and Perspectives. *Stem Cells Transl Med.* 2012;1(3):237–47.
 38. Pimentel-Parra GA, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinatol y Reprod Humana.* 2017;31(1):28–33.
 39. Dolati S, Yousefi M, Mahdipour M, Afrasiabi Rad A, Pishgahi A, Nouri M, et al. Mesenchymal stem cell and bone marrow mononuclear cell therapy for cardiomyopathy: From bench to bedside. *J Cell Biochem.* 2019;1;120(1):45–55.
 40. Schneider S, Unger M, Van Griensven M, Balmayor ER. Adipose-derived mesenchymal stem cells from liposuction and resected fat are feasible sources for regenerative medicine. *Eur J Med Res.* 2017; 19;22(1).
 41. Saxer F, Scherberich A, Todorov A, Studer P, Miot S, Schreiner S, et al. Implantation of Stromal Vascular Fraction Progenitors at Bone Fracture Sites: From a Rat Model to a First-in-Man Study. *Stem Cells.* 2016; 1;34(12):2956–66.
 42. Effectiveness of Adipose Tissue Derived Mesenchymal Stem Cells as Osteogenic Component in Composite Grafts - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. Disponible desde: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01532076>.
 43. Saito A, Nagaishi K, Iba K, Mizue Y, Chikenji T, Otani M, et al. Umbilical cord extracts improve osteoporotic abnormalities of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and promote their therapeutic effects on ovariectomized rats. *Sci Rep.* 2018; 8(1), 1–16.
 44. Qi X, Zhang J, Yuan H, Xu Z, Li Q, Niu X, et al. Exosomes secreted by human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells repair critical-sized bone defects through enhanced angiogenesis and osteogenesis in osteoporotic rats. *Int J Biol Sci.* 2016; 25;12(7):836–49.
 45. Iaquinta MR, Mazzoni E, Bononi I, Rotondo JC, Mazziotto C, Montesi M, et al. Adult Stem Cells for Bone Regeneration and Repair. *Front. Cell Dev. Biol.* 2019;7:268-83.
 46. Nielson CM, Liu CT, Smith AV, Ackert-Bicknell CL, Reppe S, Jakobsdottir J, et al. Novel Genetic Variants Associated With Increased Vertebral Volumetric BMD, Reduced Vertebral Fracture Risk, and Increased Expression of SLC1A3 and EPHB2. *J Bone Miner Res.* 2016;31(12):2085–97.
 47. Alonso N, Lucas G, Hysi P. Big data challenges in bone research: genome-wide association studies and next-generation sequencing. *Bonekey Rep.* 2015; 11;4:635.
 48. Tanaka K, Ichiro, Xue Y, Nguyen-Yamamoto L, Morris JA, Kanazawa I, Sugimoto T, et al. FAM210A is a novel determinant of bone and muscle structure and strength. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115(16):E3759–68.
 49. Garnero P. The Utility of Biomarkers in Osteoporosis Management. *Mol Diagn Ther.* 2017;21: 401–18.
 50. Vasikaran SD, Chubb SAP, Schneider HG. Towards optimising the provision of laboratory services for bone turnover markers. *Pathology.* 2014;46(4):267–73.
 51. Hay E, Bouaziz W, Funck-Brentano T, Cohen-Solal M. Sclerostin and Bone Aging: A Mini-Review. *Gerontology.* 2016;62(6):618-623.
 52. Chubb SAP, Vasikaran SD. Measurement and Clinical Utility of CTX in Serum and Plasma. *Adv Clin Chem* 2017;81:97-134.
 53. Uebelhart B, Rizzoli R, Ferrari SL. Retrospective evaluation of serum CTX levels after denosumab discontinuation in patients with or without prior exposure to bisphosphonates. *Osteoporos Int.* 2017;1;28(9):2701–5.
 54. Meng J, Zhang D, Pan N, Sun N, Wang Q, Fan J, et al. Identification of miR-194-5p as a potential biomarker for postmenopausal osteoporosis. *Peer J.* 2015;3:e971.
 55. Wang Y, Li L, Moore BT, Peng X-H, Fang X, Lappe JM, et al. MiR-133a in Human Circulating Monocytes: A Potential Biomarker Associated with Postmenopausal Osteoporosis. Huang Q, editor. *PLoS One* 2012;7(4):e34641.
 56. Cao Z, Moore BT, Wang Y, Peng X-H, Lappe JM, Recker RR, et al. MiR-422a as a Potential Cellular MicroRNA Biomarker for Postmenopausal Osteoporosis. *PLoS One.* 2014;9(5):e97098.
 57. Stains JP, Civitelli R. Genomic approaches to identifying transcriptional regulators of osteoblast differentiation. *Genome Biol.* 2003;4(7):222.
 58. Saito H, Gasser A, Bolamperti S, Maeda M, Matthies L, Jähn K, et al. TG-interacting factor 1 [Tgif1]-deficiency attenuates bone remodeling and blunts the anabolic response to parathyroid hormone. *Nat Commun.* 2019; 10(1)1354-68.
 59. Hiraoka A, Yano K, Kagami N, Takeshige K, Mio H, Anazawa H, et al. Stem cell growth factor: in situ hybridization analysis on the gene expression, molecular characterization and in vitro proliferative activity of a recombinant preparation on primitive hematopoietic progenitor cells. *Hematol J.* 2001;2(5):307–15.
 60. Wewer UM, Ibaraki K, Schjørring P, Durkin ME, Young MF, Albrechtsen R. A potential role for tetranectin in mineralization during osteogenesis. *J Cell Biol* 1994; 127:1767–1775.
 61. Yue R, Shen B, Morrison SJ. Clec11a/osteolectin is an osteogenic growth factor that promotes the maintenance of the adult skeleton. *eLife* 2016;5:e18782.
 62. Tella SH, Gallagher JC. Biological agents in management of osteoporosis. *Eur J Clin Pharm;* 2014; 70: 1291–301.
 63. Fairfield H, Rosen CJ, Reagan MR. Connecting Bone and Fat: the Potential Role for Sclerostin. *Curr Mol Biol Reports.* 2017; 3(2):114–21.

CURSOS ABA

ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA

CICLO LECTIVO 2023

PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

Informes e inscripción

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina

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

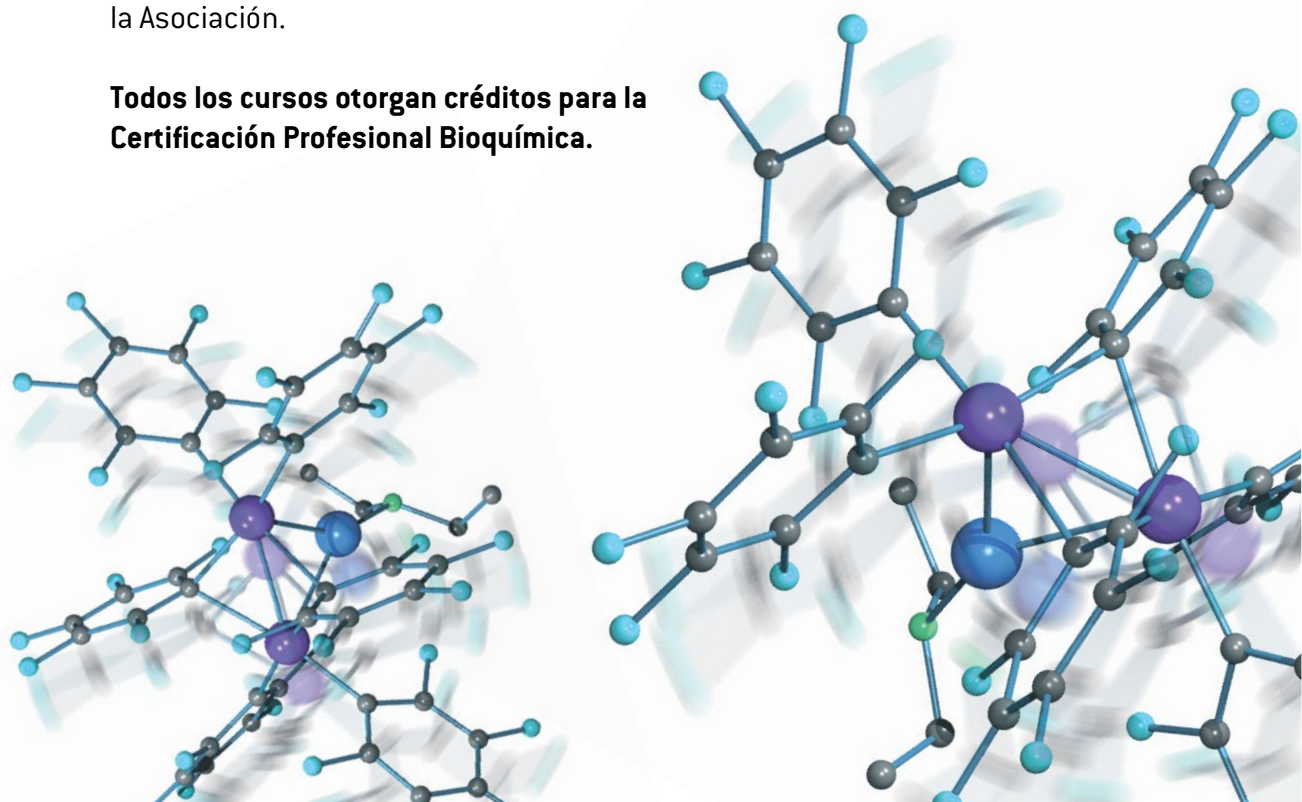
Tel: (011) 4381-2907 Telefax: (011) 4384-7415 - De 15 a 19 Hs.

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.



Anuncie en ByPC...

Bioquímica y Patología Clínica



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina
Incorporada al Latindex y a la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (REDALYC)

Venezuela 1823 - Piso 3 - CP (1096)
Buenos Aires - Argentina
Tel/ fax: 4384-7415 - Tel: 4381-2907
e-mail: info@aba-online.org.ar
www.aba-online.org.ar

The collage features several covers of the journal 'Bioquímica y Patología Clínica'. The central cover (VOL 74 - Nº 2 - 2010) features a portrait of Eugenia Sacerdote de Lustig and a laboratory scene. To its left is a cover (VOL 74 - Nº 1 - 2010) with a microscopic image of bone marrow cells and the title 'Médula ósea de paciente de 4 meses de edad con Síndrome de Chediak Higashi'. To its right is a cover (VOL 75 - Nº 2 - 2011) with a portrait of a man and the title '69º Congreso Argentino de Bioquímica: Los Grandes Síndromes Clínicos: De la sospecha clínica al diagnóstico bioquímico molecular'. Another cover (VOL 75 - Nº 1 - 2011) shows a couple dancing. The background includes a molecular structure graphic and the ABA logo.

PROGRAMA DE EVALUACIÓN CONTÍNUA ABA 2023

PRIMER CUATRIMESTRE

	NOMBRE DEL CURSO	INICIO 2023	DURACION	DIRECTOR/A
1	LA NEFROLOGIA DESDE EL LABORATORIO Y LA CLINICA I: Fisiopatología renal y bioquímica de los líquidos y electrolitos	13-Mar	CUATRIMESTRAL	Dr. Alberto Villagra
2	BIOLOGÍA MOLECULAR: APLICACIONES CLÍNICAS	13-Mar	ANUAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
3	ESTADÍSTICA PRACTICA: "Herramientas básicas para la investigación clínica"	13-Mar	ANUAL	Prof. Dra. María de Luján Calcagno
4	CURSO ANUAL DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	20-Mar	ANUAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovensky
5	TÓPICOS DE ACTUALIZACION EN BIOQUÍMICA CLINICA EN LA PRACTICA DIARIA 2023	20-Mar	ANUAL	Dra. Silvia B. González Dra. Viviana Osta
6	CONTROL DE CALIDAD INTERNO. Fundamentos y estrategias para el laboratorio clínico	27-Mar	ANUAL	Dr. César Collino y otros
7	GASES EN SANGRE, OXIMETRIA, ELECTROLITOS Y METABOLITOS	27-Mar	SEMESTRAL	Dra. Silvia Gonzalez
8	HEMOSTASIA: PRINCIPIOS BASICOS TEORICOS Y PRACTICOS	3-Apr	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
9	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO, DE LA CLÍNICA AL LABORATORIO	3-Apr	SEMESTRAL	Dra. María José Rial Dr. Jaime Kovensky
10	EVALUACIÓN DE LA PAREJA INFERTIL. "Rol e importancia del Laboratorio"	3-Apr	ANUAL c/15 días	Dr. Eduardo Mormandi Dra. Patricia Otero
11	DIAGNÓSTICO DE LAS HEMOGLOBINOPATÍAS Y TALASEMIAS: "A partir de casos clínicos"	10-Apr	CUATRIMESTRAL	Dra. Mónica Aixalá Dra. Silvia González
12	GENÓMICA Y BIOINFORMÁTICA APLICADAS A LA MEDICINA DE PRECISIÓN	10-Apr	CUATRIMESTRAL	Dr. Martín Abba Dr. Mariano Golubicki
13	LA BIOQUÍMICA EN EL BANCO DE SANGRE	10-Apr	SEMESTRAL	Dr. Jorge Rey
14	PATOLOGÍAS ENDOCRINOLÓGICAS: "El laboratorio clínico herramienta indispensable en el diagnóstico"	10-Apr	ANUAL	Dra. Patricia Otero
15	CALIDAD ANALITICA: Implementación de un Sistema de Gestión de Calidad: Herramientas prácticas para el Laboratorio Bioquímico	17-Apr	SEMESTRAL	Dr. César Collino Dr. César Yené Dr. Pablo Lujan Dr. Claudio Abiega
16	TOPICOS DE BIOQUÍMICA CLÍNICA Y PATOLOGÍA EN PEDIATRÍA 2023	17-Apr	ANUAL	Dra. Sandra Ayuso Dra. Viviana Osta
17	HERRAMIENTAS PARA EL RECONOCIMIENTO CITOMORFOLÓGICO DE LOS LINFOCITOS EN TRASTORNOS BENIGNOS Y MALIGNOS: linfocitos reactivos o sospecha de neoplasia?	24-Apr	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
18	TOXICOLOGIA LEGAL Y FORENSE	24-Apr	SEMESTRAL	Dra. Adriana Ridolfi Dra. Gloria Álvarez
19	ACTUALIZACION EN DIAGNÓSTICO VIRAL	27-Apr	CUATRIMESTRAL	Dra. María José Rial Dra. Alejandra Svartz
20	EL LABORATORIO FRENTE A LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: evaluación de factores de riesgo lipídico, no lipídico y de marcadores del evento agudo	27-Apr	CUATRIMESTRAL	Prof. Dr. Fernando Brites
21	BASES MOLECULARES Y CELULARES DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA INMUNE	1-May	SEMESTRAL	Dr. Fernando Chirido
22	ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA PATOLOGÍA ONCOLÓGICA	1-May	ANUAL	Dra. María Rugiero Dr. Eduardo Mormandi
23	CURSO INTEGRAL SOBRE LÍQUIDOS DE PUNCIÓN con Tópicos de Urgencia	8-May	CUATRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro

24	HALLAZGOS INUSUALES EN EL EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA QUE ORIENTAN A LA SOSPECHA DE DIFERENTES ENFERMEDADES	8-May	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
25	UTILIDAD DE LOS BIOMARCADORES EN SEPSIS	8-May	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia Gonzalez
26	ACTUALIZACIÓN EN EL ESTUDIO DE LAS DISPROTEINEMIAS	12-Jun	SEMESTRAL	Dra. Isabel Desimone Dra. Isabel Crispiani
27	CLAVES PARA LA INTERPRETACION Y VALIDACION DEL HEMOGRAMA AUTOMATIZADO. DETECCIÓN DE INTERFERENCIAS	12-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
28	ROL DE LA MORFOLOGÍA DE LAS CELULAS HEMATICAS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS (NUEVO)	26-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
SEGUNDO SEMESTRE				
	NOMBRE DEL CURSO	INICIO 2023	DURACIÓN	DIRECTOR/A
29	APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. - CURSO POR CONVENIO: ABA- GRFC.	3-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa Dra. Emilse Bermejo
30	EVALUACIÓN DEL SEMEN HUMANO. TEÓRICO-PRÁCTICO	3-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Julia Irene Ariagno
31	HEMOSTASIA EN PEDIATRIA	3-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Inés Marcone Dra. Laura Colitto
32	EXÁMEN DE ORINA. ASPECTOS CITOLÓGICOS Y MICROBIOLÓGICOS	10-Jul	TRIMESTRAL	Dr. Luis Palaoro
33	CURSO DE NEUROINMUNOLOGIA	10-Jul	CUATRIMESTRAL	Dra. Silvia G. Ramos Dr. Andres Villa Dr. Gabriel Carballo
34	CURSO DE HISTOCOMPATIBILIDAD	17-Jul	CUATRIMESTRAL	Dr. Fernando Torletti
35	EL MICROSCOPIO COMO ALIADO EN EL DIAGNOSTICO (NUEVO)	17-Jul	SEMESTRAL	Dras. Viviana Osta María de la Paz Domínguez
36	CURSO DE AUTOINMUNIDAD – CLINICA Y LABORATORIO VER	24-Jul	CUATRIMESTRAL	Dr. Gabriel Carballo
37	INMUNOLOGIA CELULAR- EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE Y SUS PATOLOGÍAS	31-Jul	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Novoa
38	INHIBIDORES ADQUIRIDOS DE LA COAGULACION (NUEVO)	7-Aug	CUATRIMESTRAL	Dr. Ricardo Forastiero Dra. Cristina Duboscq
39	DILEMAS EN LA IDENTIFICACION MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS DE LA SERIE MIELOIDE EN SANGRE PERIFERICA (NUEVO)	4-Sep	TRIMESTRAL	Dra. Claudia Ayuso
40	MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS .CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO	2do cuatrimestre	FALTA	Dras. Silvina Farrando María Laura Sánchez
41	HERRAMIENTAS BÁSICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR	2do cuatrimestre	SEMESTRAL	Dr. Luis Bastos Dra. María de la Paz Domínguez
42	NEFROLOGÍA II . Rol del laboratorio en los criterios diagnósticos (NUEVO)	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr. Alberto Villagra
43	NORMAS ISO (NUEVO)	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr. César Collino
44	BIOQUIMICA EN EL DEPORTE (NUEVO)	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr Christian Lassen y otros

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.