



ASOCIACIÓN  
BIOQUÍMICA  
ARGENTINA

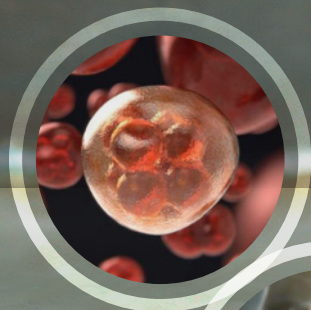
# ByPC

# Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación  
Bioquímica Argentina

Vol. 87 - Nº1  
Ene.- Abr. de 2023

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



Revista de la Asociación Bioquímica Argentina - Volumen 87 - Nº1 - Enero - Abril de 2023

ByPC Bioquímica y Patología Clínica

Los científicos estadounidenses **Carolyn Bertozzi** y **Barry Sharpless** junto al danés **Morten Meldal** recibieron el Premio Nobel de Química 2022 de la Real Academia de Ciencias de Suecia en reconocimiento a la creación de la "química clic" y de la "química bioortogonal".

## EDITORIAL

- Pág. 20 **El ser científico**  
*Being a scientist*  
Verona, Julian.

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- Pág. 22 **Recuento plaquetario y volumen plaquetario medio en pacientes sépticos: variación y asociación con mortalidad**  
*Platelet count and mean platelet volume in septic patients: Variation and association with mortality*  
Acosta Liotard, Florencia Belén.
- Pág. 27 **Evaluación del desempeño diagnóstico de tres ensayos serológicos para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2**  
*Evaluation of the diagnostic performance of three serological assays for the detection of IgG assays against SARS-CoV-2*  
Alcalde, María Belén; Chiodini, Julieta; Shepherd Safar, Melanie; Accorinti, Ailin; Alegre, María; González, María Sandra.
- Pág. 35 **Estudio del valor de Ct y el polimorfismo D/I del gen ECA1 en la respuesta al SARS-COV-2**  
*Study of the impact of the ACE1 I/D polymorphism and SARS-COV-2 Ct value on COVID-19 infection*  
Quintana, Silvina; Giustina, Silvina; Montiel Belmonte, Javier; Di Gerónimo, Vanesa Mariana; Fedele, Stefanía; Sanz, Yamila; Ligorino, Gisela; Gorla, Natalia; Giletto, Giuliana; Rivero, Mariana; Fares Taie, Hernán.
- Pág. 40 **Valor predictivo del sodio plasmático en pacientes internados con COVID-19**  
*Predictive value of plasma sodium in hospitalized patients with COVID-19*  
Towstyka, Nadia Yasmín; Palanek, María Laura; Brethauer Alejandra; Morvillo, Natalia; Tarditti, Adrián; Duarte, Ender.
- Pág. 45 **Método rápido y directo para detección de variantes delta y ómicron BA.1 por RT-PCR en tiempo real**  
*Fast and direct method for the detection of the SARS-CoV-2 Delta and Omicron BA.1 variants by real-time RT-PCR*  
Chialva, Constanza Soledad; Galdí, Mónica Ana María; Buscalia, María Laura, Quiroz, Héctor Magno.

## REVISIÓN

- Pág. 55 **Biología aplicada al diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Avances en biofármacos, bioterapias y biomarcadores. Parte 1**  
*Biotechnology applied to the diagnosis and treatment of osteoporosis. Review of biotechnological advances in pharmacy and biochemistry. Part 1*  
Sterin Prync, Aída Edith; Bagnato, Julieta; Olano, Lucía; Ronchi Rivara, Juan Pablo; Solari Ligo, María Florencia; Torrens, Pierina; Carlucci, Adriana Mónica.

## PROGRAMA DE EDUCACIÓN CONTINUA

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



Los científicos estadounidenses **Carolyn Bertozzi** y **Barry Sharpless** junto al danés **Morten Meldal** recibieron el Premio Nobel de Química 2022 de la Real Academia de Ciencias de Suecia en reconocimiento a la creación de la "química clic" y de la "química bioortogonal".

## TAPA

Los científicos estadounidenses Carolyn Bertozzi y Barry Sharpless, y el danés Morten Meldal recibieron el Premio Nobel de Química 2022 otorgado por la Real Academia de Ciencias de Suecia.

Fue en reconocimiento a la creación de la "química clic" y de la "química bioortogonal" que, entre otras cosas, sirvieron para desarrollar productos farmacéuticos, mapear el ADN y crear materiales que sean más adecuados para su propósito.

Carolyn Ruth Bertozzi nació el 10 de octubre de 1966 en Boston, Massachusetts, Estados Unidos. Se graduó de química en la Universidad de Stanford, donde ocupa la cátedra de Anna T. and Robert M. Bass en la Escuela de Humanidades y Ciencias.

Karl Barry Sharpless nació el 28 de abril de 1941 en Filadelfia, Pensilvania, Estados Unidos. Es químico y profesor universitario, galardonado con el Premio Nobel de Química en dos oportunidades, en el año 2001 por su trabajo en la teoría de "química click" y en el año 2022, por la implementación de dicha técnica.

Morten Peter Meldal nació el 6 de enero de 1954 en Copenhague, Dinamarca, es químico y profesor de química orgánica en el Centro de Biología Química Evolutiva de la Universidad de Copenhague.

El Premio Nobel del año 2022 reconoce a los químicos que desarrollan nuevas reacciones que permiten preparar moléculas en el laboratorio, e incluso a escala industrial, usando una aproximación a modo de bloques de "Lego". No se trata del reconocimiento a una reacción química concreta, sino a una estrategia que permite conectar dos fragmentos moleculares sin que se forme ningún subproducto. De este modo, se pueden construir estructuras moleculares diversas minimizando al máximo los residuos y atendiendo a unos de los principios de la química sostenible: la economía atómica. Esto se refiere a no "desperdiciar" materia, al tiempo que se evitan etapas de purificación de los compuestos preparados.

La reacción paradigmática de la "química clic" es la reacción de una azida -con tres átomos de nitrógeno- con un hidrocarburo para formar 1,2,3-triazol. La reacción era cono-

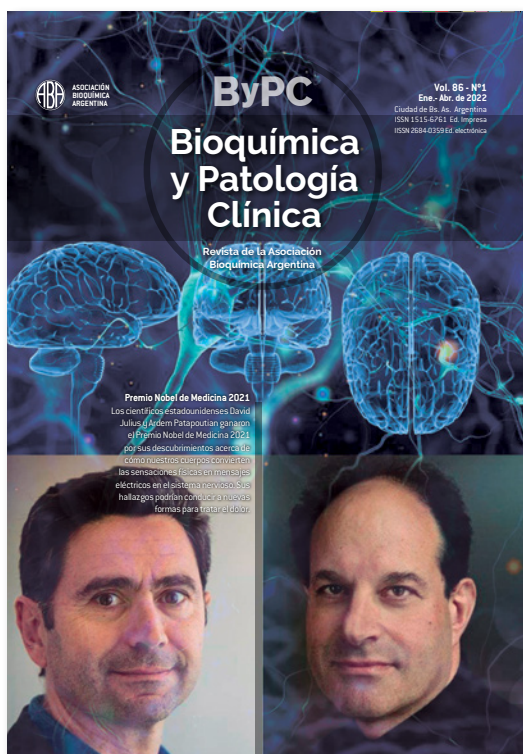
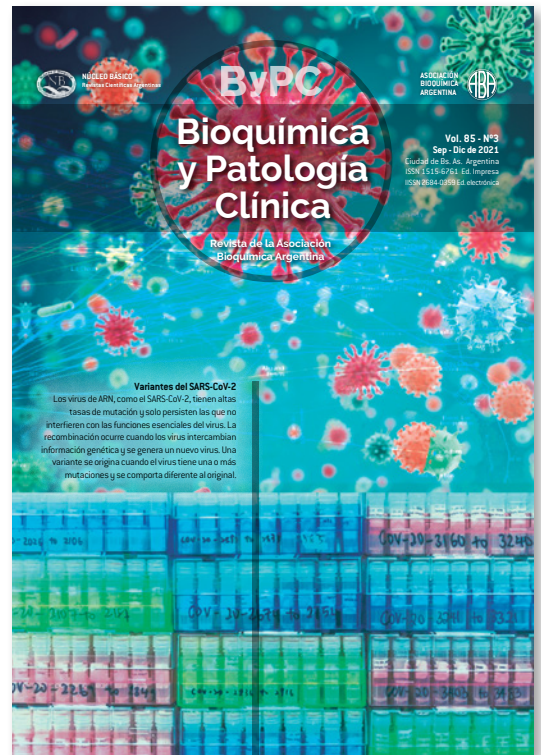
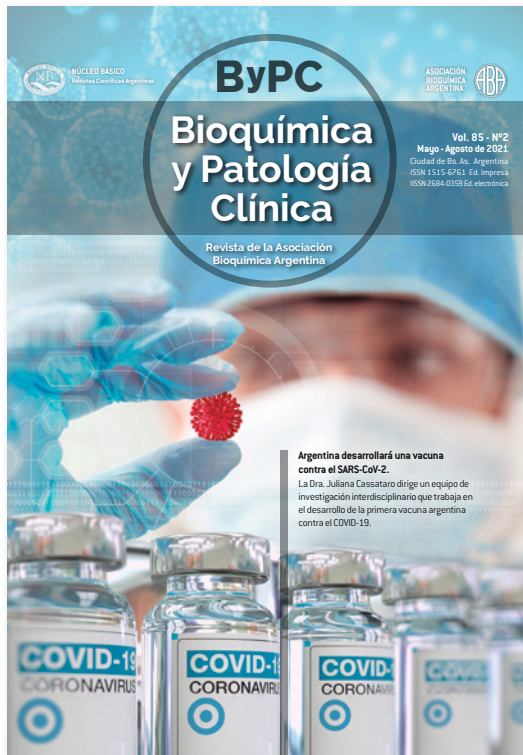
cida desde 1893, y fue estudiada en la década de los años 50 por otros investigadores también galardonados con el Premios Nobel; pero su uso estaba muy limitado. Fue en el año 2001 que Morten Meldal [otro galardonado] descubrió cómo desarrollar la reacción a temperatura ambiente. Y de manera casi simultánea, Sharpless logró realizar esta reacción en agua.

Se abría así una línea de trabajo novedosa con aplicaciones en muy diversos campos. Por ejemplo, la síntesis de una supermolécula, de 4 nanómetros de tamaño, conocida como “superbola”, que inhibe la infección celular por un virus del Ébola artificial, y se creó con doce “reacciones clic”.

Bertozzi, que trabajaba en métodos para determinar la estructura y función de los azúcares en las células, se preguntaba si era posible realizar reacciones orgánicas dentro de un organismo vivo. La respuesta fue un sí rotundo. Fue ella misma quien introdujo el término biortogonal para definir las reacciones quimioselectivas que pueden usarse en sistemas biológicos. Son reacciones que pueden realizarse en condiciones fisiológicas sin interferir ni verse afectadas por los procesos biológicos que ocurren en el entorno. Su atención se centró en los glicanos, carbohidratos que se unen en la superficie de proteínas y células.

Las reacciones que desarrollaron han tenido múltiples aplicaciones. Por ejemplo, en el caso de Bertozzi, se ha centrado en los glicanos en la superficie de células tumorales, mostrando que algunos glicanos pueden proteger a los tumores frente al sistema inmunitario y hacer que las células inmunes “se apaguen”. La solución a este problema será “romper” la unión de los glicanos en la superficie de la célula tumoral para hacerlas vulnerables.

Recordando la intervención de Sharpless en el año 2001 al recibir el galardón por primera vez, la Academia señala que “estas cuatro palabras de elogio son necesarias para hacer justicia a la química para la que él, Carolyn Bertozzi y Morten Meldal han sentado las bases. Además de ser elegante, inteligente, novedosa y útil, también aporta el mayor beneficio a la humanidad”, idea esta última siempre presente en la concesión de los premios Nobel como reflejó Alfred Nobel en su testamento.



### 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

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

#### Dra. Isabel Desimone

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

#### Dr. Jaime Kovensky

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

#### Dr. Julián Verona

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

#### 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

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

Dra. Isabel Desimone

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

Dr. Jaime Kovensky

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

Dr. Julián Verona

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

##### Correctoras:

Lic. Débora Schmer Miranda [Español]

Lic. María Victoria González Eusevi [Inglés]

##### Secretarios Administrativos:

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

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

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

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

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

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

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

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

#### 3. Carta

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

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

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

- 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<sup>1\*</sup>; Benítez, Laura<sup>2</sup>; Romero, Mario<sup>3</sup>].
- 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 descriptos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados [como los intervalos de confianza]. Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores P, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos clásicos (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el *software* utilizado.
- 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:  
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 indexadas 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, Sikié BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9(2): xi xii.
  - Tipo de artículo indizado tal como es requerido:  
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337.
- Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
- Artículo conteniendo una retractación:  
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6: 426-31]. *Nat Genet* 1995; 11: 104.
  - Artículo retractado:  
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retractado en *Invest Ophthalmol 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, Feasley JC, 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, 107 Stat, 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		
<b>Título</b>				
¿Contiene el objeto de estudio y menciona las principales variables estudiadas?				
¿Emplea abreviaturas, acrónimos, símbolos o fórmulas poco conocidas?				
¿Es una representación breve y precisa del contenido del artículo?				
<b>Introducción</b>				
¿Están bien resumidos los antecedentes del tema de estudio y son pertinentes al mismo?				
¿Está claramente definido el objetivo principal?				
<b>Materiales y métodos</b>				
¿La población y / o muestra estudiada está claramente definida?				
¿Se menciona con claridad el diseño metodológico?				
¿Los métodos aplicados están desarrollados con claridad y suficientes detalles?				
¿El tratamiento estadístico es el adecuado?				
<b>Resultados</b>				
¿Los datos están bien presentados?				
¿Las tablas, las figuras y los gráficos son comprensibles?				
¿Existen tablas, gráficos o figuras que deban cambiarse, eliminarse o ser agregados?				
¿Existe duplicación de la información entre el texto, las tablas, las figuras y/o gráficos?				
<b>Discusión</b>				
¿Los resultados son adecuadamente discutidos?				
¿Se confrontan con referencias actualizadas de otros autores pertinentes?				
¿Existen errores de cálculo, interpretación u omisión?				
<b>Conclusiones</b>				
¿Las conclusiones se soportan en los datos obtenidos?				
¿Son correctas y acordes al objetivo planteado para este estudio?				
<b>Referencias bibliográficas</b>				
¿Se mencionan completamente todas las referencias bibliográficas citadas en el trabajo?				
¿Se consignan con el formato establecido para la revista?				
<b>Modificaciones sugeridas y recomendaciones para el/los autor/es</b>				
<b>Comentarios exclusivos para el editor</b>				
Dictamen	Aceptar <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios menores <input type="checkbox"/>	Aceptar con cambios mayores <input type="checkbox"/>	Rechazar <input type="checkbox"/>

# PUBLICATIONS REGULATION

## BIOCHEMICAL AND CLINICAL PATHOLOGY JOURNAL

### BIOCHEMICAL ASSOCIATION ARGENTINA

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

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

##### **Director:**

Dr. Fernando D. Brites

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

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

Dr. Fabrina Capece

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

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

Dr. Orlando Gabriel Carballo

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

Dra. Isabel Desimone

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

Dr. Jaime Kovensky

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

Dr. Julián Verona

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

##### **Language checker**

Lic. Débora Schmer Miranda (Spanish)

Lic. María Victoria González Eusevi (English)

##### **Administrative Secretaries**

Mr. Gastón Goldberg

Mr. Jorge Signorelli

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

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

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

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

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

#### **3. Letter**

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

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

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

#### 5. Preparation of the manuscripts

##### 5.1. Overview:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 6. 1. Bibliographic citations:

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

#### a) Type of appointments

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

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

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

Examples:

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

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

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

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

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

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

### 6. 2. Bibliographic references:

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

#### a) Journal articles

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

- Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infatpatellar sen-  
eruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996;  
116: 412.
- Volume with supplement:  
Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and  
occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Sup-  
pl 1: 275-82.
  - Number with supplement:  
Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reac-  
tions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].
  - Volume with part:  
Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in  
non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;  
32 [Pt 3]: 303-6.
  - Number with part  
People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases offlap lacera-  
tions of the leg in aging patients. *N Z Med J* 1994,107 [986 PH]:  
377-8.
  - Number without volume  
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrod-  
esis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; [320]: 110-4.
  - No number, no volume:  
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient  
and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr  
Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
  - Collation in Roman numerals:  
Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Intro-  
duction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9 [2]: xi xii.
  - Type of article indexed as required:  
Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease  
[letter]. *Lancet* 1996; 347 1337.  
Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus  
nephropathy (HVN) [abstract] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
  - Article containing a retraction:  
Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect as-  
sociated with epilepsy in EL mice [retraction of Garey CE, Schwarz-  
man AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6: 426-31]. *Nat Genet* 1995,  
11: 104.
  - Retracted article:  
Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression  
during mouse development [retracted in *Invest 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  $9.25 \pm 0.78$ ).
- In the expression of the results, the separation between the integer and the decimals must be done with commas and not with dots, which is typical of the English language (3.25), except for the English summary (Abstract) which points should be used (3.25).
- In the text, when a number appears at the beginning of the sentence, it must be written in letters (Ex. Twenty patients ..).



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

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

### Guidance form for manuscript evaluation

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

# El ser científico

Más allá de las cuestiones propias de la ciencia y la investigación, los investigadores se deben a la sociedad y tienen una responsabilidad ineludible con ella. Para que este vínculo se mantenga y fortalezca deben generar confianza. La manera de hacerlo es mediante la generación de resultados honestos que sean el reflejo adecuado de su trabajo científico. Para ello, los datos deben ser recolectados de manera adecuada, deben emplearse técnicas analíticas y estadísticas apropiadas, los resultados deben ser reportados y de manera correcta y se debe respetar el trabajo de otros investigadores.

Los investigadores tienen tres obligaciones fundamentales: I) honrar la confianza que los colegas les dieron, pensando que la ciencia es una empresa acumulativa en donde la investigación nueva se basa en los resultados previos, ii) adherir a estándares profesionales y construir una carrera de investigación íntegra y iii) comportarse de manera de servir a la sociedad.

Particularmente, los investigadores con trayectoria tienen la gran responsabilidad de desempeñarse y enseñar altos estándares de trabajo científico. Por eso es tan importante la tarea que tienen como mentores de nuevos investigadores. Los mentores tienen un interés personal y profesional en el desarrollo de un investigador pudiendo a su vez resultar muy beneficiados a través de la exposición a nuevas ideas, la construcción de un programa de investigación fuerte y el establecimiento de una red de colaboradores. Todo esto contribuye a mantener la cohesión social en la ciencia y al fortalecimiento de la profesión.

El adecuado tratamiento que un investigador le da a los datos es un tema central para la ciencia. Los datos no conducentes pueden deberse a un pobre diseño experimental o a mediciones hechas sin cuidado. Es por eso que en los artículos científicos existe una sección denominada "Materiales y Métodos" en donde se detallan cómo fueron obtenidos los datos. Se requiere siempre que los investigadores lleven un historial consistente de sus experimentos.

Más allá de los errores que pudieran ocurrir en una investigación (errores honestos), existen otros causados por negligencia (prisa, descuido, inatención, etc.). Los investigadores que actúan con negligencia ponen en riesgo su propia reputación, el trabajo de sus colegas y la confianza de la sociedad en la ciencia. Si un investigador manipula los datos está violando los valores básicos y los estándares profesionales. Además, podría desviar a los colegas e impedir el progreso en sus líneas de investigación. Manipular los datos socava la autoridad y confianza como investigador e introduce información en los anales científicos que podría dañar a la sociedad. Para progresar los investigadores deben confiar en que los investigadores anteriores a ellos realizaron

su trabajo de acuerdo a estándares aceptados.

La mala conducta en la investigación se refiere a comportamientos que se alejan o desvían de los principios centrales de la ciencia. Incluyen: fabricación, falsificación y plagio al proponer, ejecutar, rever o reportar resultados. La fabricación es la invención de datos o resultados. La falsificación es la manipulación de materiales de investigación, equipamiento o procesos, el cambio o la omisión de datos o resultados, de modo que la investigación no quede adecuadamente representada en los registros. El plagio es la apropiación de las ideas, los procesos, los resultados o las palabras de otro investigador, sin darle el crédito apropiado. La distinción entre errores no conducentes o negligencia y fabricación, falsificación o plagio es la intención de engañar. Estas acciones son vistas como las peores violaciones de los estándares científicos porque socavan la confianza en que la ciencia se basa.

La comunidad científica se autoregula siendo la fuente de la mayoría de los estándares y prácticas a los que se espera adhieran los investigadores. Sin embargo, reportar que un investigador ha violado alguno de estos estándares es difícil. Expresar preocupación acerca de una situación o solicitar una aclaración suelen funcionar mejor que realizar cargos directamente. A pesar de ello, ser testigo de que alguien ha incurrido en una mala conducta científica obliga a actuar. La comunidad científica, la sociedad y la integridad personal de los investigadores emergen más fuertes cuando se hacen esfuerzos para mantener altos los valores fundamentales de la ciencia.

Cuando la investigación requiere del uso de pacientes como sujetos de estudio debe ser diseñada de manera de minimizar el riesgo y hacer que el mismo sea razonable para el beneficio esperado. Los participantes del estudio deben firmar un consentimiento informado en donde se les informe sobre los elementos más importantes del protocolo, se les garantice la privacidad y la confidencialidad de los datos. Las investigaciones que involucren sujetos humanos deben ser revisadas y aprobadas por comités de ética en investigación, los cuales deben aprobar la investigación, conducir revisiones regularmente y revisar y aprobar cambios propuestos en el transcurso de la investigación. Además, deben monitorear los procedimientos de consentimiento informado, recolectar información sobre efectos adversos y examinar posibles conflictos de interés.

Cuando se utilicen animales, se debe garantizar el cuidado y uso apropiado de los mismos. Se debe considerar la alternativa de las 3 Rs: reducción en el número de animales utilizados, refinamiento de las técnicas y procedimientos tendiente a reducir el dolor o el estrés y reemplazo del uso de animales vivos y conscientes por otros métodos.

La utilización de materiales peligrosos y la seguridad en el laboratorio son aspectos que los investigadores deben considerar y revisar al menos una vez al año. Esto incluye el uso apropiado de vestimenta y equipo de protección, la manipulación segura de materiales de laboratorio, la utilización segura del equipamiento, el descarte adecuado de los materiales, una gestión de seguridad responsable, una evaluación adecuada de los riesgos, procedimientos de transporte seguro de materiales entre laboratorios, diseño seguro de los laboratorios, conocer las acciones a llevar a cabo frente a emergencias, educación en seguridad para el personal y medidas acordes con las regulaciones.

La manera más importante de compartir un trabajo de investigación es a través de una publicación revisada por pares. La revisión por pares ofrece un valioso mecanismo para evaluar y mejorar la calidad de un artículo científico. Si un investigador publica resultados preliminares y luego se demuestra que son incorrectos podría perderse mucho trabajo de investigación y podría ponerse en peligro la confianza de la sociedad. Además, está bastante establecido que el primero en publicar un hallazgo suele ser el que recibe la mayor parte del crédito por el descubrimiento. Una vez publicados, los resultados podrán ser utilizados por otros investigadores siempre que se cite la fuente. En este sentido, los autores deberían esforzarse por citar los trabajos originales (habiéndolos leídos previamente) en vez de artículos más recientes o directamente revisiones que se basan en los primeros. Es importante que las citas sean apropiadas y relevantes al trabajo en cuestión y sirvan para sustentar lo que se está expresando. Las citas permiten destacar lo novedoso y significativo del nuevo trabajo. La práctica de publicar artículos científicos es susceptible a abusos por parte de los autores. Estos podrían querer publicar el mismo trabajo de investigación en dos lugares diferentes aunque la mayoría de las revistas y sociedades profesionales explícitamente lo prohíben.

Con respecto a las autorías y al otorgamiento de crédito, la política de la mayoría de las revistas científicas es que un investigador debe ser listado como autor de un artículo científico si hizo una contribución directa y sustancial al diseño de la investigación, la interpretación de los datos o la escritura del trabajo. La lista de autores otorga crédito pero también implica responsabilidad. Cuando un trabajo contiene errores, un autor puede querer deslindar su responsabilidad. Sin embargo, si el autor quiso tener el crédito por haber escrito un trabajo científico eso implica la responsabilidad por los errores que pudiese contener. Para el otorgamiento del crédito hay algunas consideraciones a tener en cuenta: el hecho de haber sido el investigador que definió el proyecto y lo puso en marcha, haber sido el investigador que más trabajó o el que mayores contribuciones realizó.

Los descubrimientos que resultan de los trabajos de investigación pueden tener gran valor para los investigadores, para los gobiernos y para las empresas. Los derechos de propiedad intelectual son una herramienta legal para

controlar la aplicación (patente) o la expresión (*copyright*) de una idea. Las patentes y los *copyrights* son mecanismos legales que buscan un balance entre las ganancias privadas y los beneficios públicos.

La expresión “conflictos de interés” se refiere a la situación en la cual los investigadores tienen intereses que podrían interferir en su juicio profesional. Manejar bien estas situaciones es crítico para mantener la integridad de los investigadores y de la ciencia toda. Los conflictos de interés podrían afectar el diseño de una investigación, la interpretación de los datos o la presentación de los resultados. La sola sospecha de la presencia de un conflicto de interés podría dañar gravemente la reputación del investigador y la percepción pública de la ciencia. Las agencias que otorgan los fondos para la investigación, las instituciones y la mayoría de las revistas requieren que los investigadores declaren sus conflictos de interés.

Finalmente, los investigadores también tienen la responsabilidad de expresar cómo su trabajo y el conocimiento que están generando podrían ser útiles para la sociedad.

Desde el Comité Editorial de la revista ByPC valoramos la dedicada tarea de cada investigador que tiene la deferencia de enviarnos un artículo para su publicación. Concebimos al investigador en toda su dimensión, en todos los aspectos detallados más arriba y, desde nuestro lugar, tratamos de realizar una contribución al progreso de la ciencia, ya sea sometiendo el artículo a una revisión por pares, solicitando determinados estándares para la presentación de los resultados, pidiendo que se haga una declaración de los conflictos de interés o, en términos generales, promoviendo las buenas prácticas científicas. En un contexto caracterizado por la pérdida de valores y donde a veces parece que vale todo, creemos necesario resaltar estas destacadas virtudes de nuestros investigadores.

Y no, no vale todo! Vale ser un científico íntegro!

Esta editorial está basada en:

*National Academy of Sciences, National Academy of Engineering, and Institute of Medicine. 2009. On Being a Scientist: A Guide to Responsible Conduct in Research: Third Edition. Washington, DC: The National Academies Press.*

**Dr. Julian Verona**

**Doctor de la UBA**

**Miembro del Comité Editorial de RByPC**

**Miembro de la IFCC TF-E**

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Recuento plaquetario y volumen plaquetario medio en pacientes sépticos: variación y asociación con mortalidad

*Platelet count and mean platelet volume in septic patients: Variation and association with mortality*

Acosta Liotard, Florencia Belén<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División Hematología Laboratorio Central, Hospital Italiano de Córdoba. Córdoba, Argentina.

\*Contacto: Acosta Liotard, Florencia Belén; División Hematología, Hospital Italiano de Córdoba, Roma 550, Córdoba Capital; flor.acostaliotard@hotmail.com

## Resumen

Introducción: Sepsis es uno de los principales diagnósticos de ingreso a terapia intensiva. En el paciente crítico, la trombocitopenia es el desorden hematológico más común y un potente indicador que expresa un desacople fisiológico global. En estas condiciones, se puede alterar el tamaño de las plaquetas, que se detecta mediante el volumen plaquetario medio (VPM). Objetivos: Evaluar la variación del recuento plaquetario y VPM a lo largo de las primeras 72 horas de internación y su asociación con mortalidad en pacientes que permanecieron en la UTI del Hospital Italiano de Córdoba con diagnóstico de sepsis o shock séptico de cualquier etiología. Materiales y métodos: Se analizan mediciones de VPM y recuento total de plaquetas de pacientes internados en terapia intensiva, divididos en dos grupos: sépticos y controles no sépticos, al inicio, a las 24, 48 y 72 horas de internación. Resultados: El recuento plaquetario en pacientes sépticos fue menor que el de pacientes con diagnóstico no relacionado; el VPM fue significativamente mayor a partir de las 24 horas y este hecho resultó más evidente según aumentaban los días de internación. Los pacientes sépticos que mueren tienen un VPM mayor que aquellos que obtienen el alta a partir de las 24 horas y recuentos plaquetarios menores que los que obtienen el alta a partir de las 72 horas. Además, poseen un VPM superior a 10,0 fL a partir de las 24 horas de internación. Discusión: Validar este parámetro como biomarcador pronóstico en sepsis significaría tener una herramienta práctica y rápidamente disponible.

**Palabras clave:** volumen plaquetario medio, plaquetas, sepsis.

## Abstract

Introduction: Sepsis is one of the main causes for admission of patients in intensive care units (ICUs). In critical patients, the most common hematologic disorder and powerful indicator expressing a global physiological disorder is thrombocytopenia. In these conditions, platelet size, which can be detected by the mean platelet volume (MPV), may be altered. Objectives: To evaluate the variation in the platelet count and MPV during the first 72 hours of hospitalization and its association with mortality, in patients who were hospitalized in ICUs with a diagnosis of sepsis or septic shock of any etiology. Materials and methods: Measurements of the MPV and platelet counts were analyzed in patients hospitalized in ICUs, divided into two groups: septic and non-septic controls, at admission and 24, 48, 72 hours after admission. Results: The mean platelet count of septic patients was lower than that of a patient with unrelated diagnosis, and the MPV was significantly higher after 24 hours and became more evident as the days of hospitalization increased. The MPV of septic patients who died was higher than that of those who survived after 24 hours and the platelet count was lower than that of those who survived after 72 hours. In addition, their MPV was higher than 10.0 fL after 24 hours of hospitalization. Conclusions: Validating the MPV as a sepsis prognostic biomarker would mean having a practical and quickly available tool.

**Key words:** Mean platelet volume, platelets, sepsis.

## Introducción

La sepsis es una de las principales causas de ingreso de enfermos en las unidades de terapia intensiva (UTI); afecta a millones de individuos en todo el mundo cada año y posee una mortalidad asociada que va desde el 30 al 40 %, que podría ascender por encima del 50 % en los casos de shock séptico<sup>1-6</sup>.

En el año 2016, el *Tercer documento internacional de consenso para la definición de sepsis y shock séptico (Sepsis-3)* definió sepsis como “una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección”. A su vez, *shock séptico* fue definido “como una subcategoría de la sepsis en la que ocurren alteraciones circulatorias y del metabolismo celular”<sup>7</sup>.

Las manifestaciones clínicas de los estadios de sepsis son, a menudo, inespecíficas y variables, lo que dificulta su reconocimiento precoz. La sepsis es considerada un síndrome difícil de definir, diagnosticar y tratar, inducido por un proceso infeccioso que cursa con alteraciones en la perfusión tisular y disfunción orgánica<sup>2,3,6</sup>. Los síntomas y signos específicos pueden no aparecer inicialmente y el diagnóstico microbiológico puede tardar incluso días. Sin embargo, no iniciar un tratamiento precozmente incrementa el riesgo de mortalidad<sup>1,4,8</sup>.

La sepsis es la respuesta desregulada del organismo ante una infección. Se reconoce por un conjunto de manifestaciones clínicas, hemodinámicas, hematológicas, bioquímicas e inflamatorias, las cuales forman parte de una respuesta orgánica global. La mortalidad relacionada con la sepsis se asocia a una falla multiorgánica debida en parte a trombosis microvascular y disfunción endotelial, que involucra también las plaquetas<sup>6,9</sup>.

Los pacientes ingresados en la UTI presentan comúnmente alteraciones en la hemostasia, de las que la trombocitopenia es un hallazgo frecuente, con una prevalencia entre el 8,3 - 67,7 % y una incidencia entre el 14 - 44 %<sup>9,10,13</sup>. Dicha variabilidad numérica, así como su interpretación como factor de pronóstico adverso, se asocia, según diversos estudios, a múltiples variables, entre las cuales se citan características de la población, grado de trombocitopenia, edad mayor o menor que 65 años, patología de base y su severidad, medicación utilizada y las características de la UTI<sup>10</sup>. En el paciente crítico, la trombocitopenia es el resultado de una alteración profunda de los mecanismos

que regulan la producción, el almacenamiento y la destrucción plaquetaria. Desde esta perspectiva, se convierte en un potente indicador que expresa un desacople fisiológico global<sup>10-12</sup> y es reconocida como un signo de mal pronóstico asociado con un aumento de la mortalidad y prolongación de la estadía del paciente en UTI<sup>9,10,13</sup>.

En condiciones inflamatorias y trombóticas, se puede alterar el tamaño de las plaquetas (PLT), que se detecta en el análisis de células de sangre de rutina mediante la evaluación del volumen plaquetario medio (VPM)<sup>1</sup>. El VPM es una medida precisa de las dimensiones de las plaquetas calculada por autoanalizadores. El rango varía entre 7,0 - 10,0 fL y el porcentaje de plaquetas con volúmenes mayores que 10,0 fL, es aproximadamente de 0,2 - 5,0 % del total. En condiciones fisiológicas, el VPM es inversamente proporcional al recuento de plaquetas, lo cual está asociado al mantenimiento de la hemostasia y preservación de la masa plaquetaria<sup>14</sup>.

Los biomarcadores son capaces de mejorar el manejo de los pacientes con sepsis, pues proporcionan una información adicional a la valoración clínica y son capaces de aumentar, en su conjunto, la capacidad diagnóstica y pronóstica<sup>2-4</sup>. Existe una amplia literatura sobre los biomarcadores empleados en el diagnóstico y manejo de la sepsis, sin embargo, ninguno de ellos tiene una sensibilidad y especificidad suficientemente adecuada para ser empleado en la práctica clínica como *gold estándar*<sup>8</sup>. Los biomarcadores más utilizados a nivel clínico siguen siendo la eritrosedimentación y proteína C reactiva, pero estos también presentan limitaciones a la hora de diagnosticar pacientes con infección<sup>2,3,8</sup>. No todas las unidades del sector de la salud cuentan con marcadores de inflamación más específicos y sensibles como la procalcitonina, ya que son de difícil acceso por sus costos elevados. Por esto, se necesita contar con alternativas de marcadores de fácil acceso y bajo costo para una detección temprana de la infección<sup>1,2,8</sup>.

El valor diagnóstico de los marcadores de inflamación podría diferenciar procesos infecciosos de los que no lo son, así como definir el pronóstico y predecir la gravedad de un proceso patológico, permitiendo iniciar un plan terapéutico adecuado y medir su respuesta<sup>1,4,8</sup>.

La relación entre la gravedad de la sepsis y la trombocitope-

**Tabla 1.** Recuento plaquetario medio al ingreso a terapia intensiva y a las 24, 48 y 72 horas posteriores.

	Grupo control Media ± DS (x10 <sup>9</sup> /L)	Pacientes sépticos Media ± DS (x10 <sup>9</sup> /L)	p - valor
Plaquetas t 0 h	302 ± 164	219 ± 106	0,0060
Plaquetas t 24 h	293 ± 143	210 ± 104	0,0023
Plaquetas t 48 h	320 ± 158	194 ± 99	0,0001
Plaquetas t 72 h	303 ± 152	184 ± 102	0,0001

► DS, desvío estándar; t, tiempo; h, horas.

**Tabla 2.** Volumen plaquetario medio al ingreso a terapia intensiva y a las 24, 48 y 72 horas posteriores.

	Grupo control Media $\pm$ DS (fL)	Pacientes sépticos Media $\pm$ DS (fL)	p - valor
VPM t 0 h	9,84 $\pm$ 0,81	11,39 $\pm$ 1,47	0,0717
VPM t 24 h	9,88 $\pm$ 0,80	11,64 $\pm$ 1,58	0,0001
VPM t 48 h	9,80 $\pm$ 0,77	11,69 $\pm$ 1,59	0,0001
VPM t 72 h	9,74 $\pm$ 0,66	11,75 $\pm$ 1,62	0,0001

► VPM, volumen plaquetario medio; DS, desvío estándar; t, tiempo; h, horas.

nia se ha sugerido en muchos estudios publicados<sup>18,19</sup>. En la sepsis, el VPM se ha estudiado como marcador pronóstico: su valor absoluto y el recuento de plaquetas han resultado adecuados predictores de mala evolución; sin embargo, han sido realizados con pocos pacientes y no se ha establecido un valor de corte<sup>14,15</sup>. Esto último, debería ser tenido en cuenta, ya que en la literatura, se definen algunos puntos de corte en relación con el método y el contador hematológico utilizado<sup>14</sup>.

Este estudio tiene como objetivo evaluar la variación del recuento plaquetario y del VPM a lo largo de las primeras 72 horas de internación y su asociación con la mortalidad en pacientes que permanecieron en la UTI del Hospital Italiano de Córdoba con diagnóstico de sepsis o shock séptico de cualquier etiología.

## Materiales y métodos

### Diseño y población

Se diseñó un estudio descriptivo de observación, retrospectivo, en el que se analizaron los valores del VPM y el recuento total de plaquetas de pacientes divididos en dos grupos: sépticos (S) y controles no sépticos (C), según cumplieran o no los criterios de sepsis. Las mediciones fueron realizadas en un autoanализador Sysmex XN-550 Roche®, al inicio y a las 24, 48 y 72 horas de internación. La metodología utilizada para la medición del recuento de plaquetas fue la impedancia con enfoque hidrodinámico y para la determinación del VPM, se calculó un promedio de los volúmenes medidos de cada plaqueta. Los datos fueron obtenidos de muestras de sangre entera con anticoagulante EDTA-K3 de pacientes mayores de 16 años, de ambos sexos, que permanecieron en la UTI entre abril y julio del año 2020, con una estadía no menor que 7 días.

Se excluyeron pacientes que recibieron transfusiones de plaquetas durante su internación, pacientes con enfermedades hematológicas, trombocitopenia preexistente o inducida por quimioterapia.

Se considera como trombocitopenia a recuentos menores que  $150 \times 10^9/L$  y como aumento del VPM, a valores que superan los 10,0 fL.

### Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó mediante *software InfoStat*, versión 2020I y el análisis de comparación de medias, a través de la prueba t de *student* para muestras independientes. El nivel de significancia considerado en las pruebas de hipótesis fue del 5%.

### Consideraciones éticas

El estudio fue realizado en concordancia con las normativas éticas dispuestas por la Ley de protección de datos personales (25326) y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Italiano de Córdoba.

### Resultados

Para el análisis de datos se contó con un total de 40 pacientes sépticos (rango de edad: 45 a 82 años) y se lo comparó con un grupo control de 36 pacientes (rango de edad: 21 a 85 años) con otras patologías no relacionadas, tales como politraumatismos, accidentes cerebrovasculares, cánceres, síndromes coronarios agudos, nefrectomías y cirugías varias del tracto gastrointestinal y genitourinario.

### Recuento plaquetario de 0, 24, 48 y 72 horas en pacientes sépticos vs. grupo control

En este caso, el objetivo fue identificar si existía diferencia significativa entre el recuento plaquetario medido al ingreso a la UTI y a las 24, 48 y 72 horas, entre los pacientes con diagnóstico de sepsis (S) y el grupo control (C).

El análisis de los resultados (Tabla 1) muestra que existe significancia suficiente como para inferir que el recuento medio de plaquetas en pacientes con sepsis es menor que el que presentan los pacientes con diagnóstico de otras patologías no relacionadas tanto al ingreso como durante la internación en la UTI.

### VPM de 0, 24, 48 y 72 horas en pacientes sépticos vs. grupo control

Al evaluar los valores del VPM en ambos grupos de pacientes durante el mismo período de tiempo de internación, se observa (Tabla 2) que el VPM de los pacientes sépticos es significativa-

**Tabla 3.** Comparación de la media del recuento plaquetario en pacientes sépticos que obtuvieron el alta vs. aquellos que fallecieron.

	Pacientes sépticos que obtuvieron el alta Media $\pm$ DS (fL)	Pacientes sépticos que fallecieron Media $\pm$ DS (fL)	p - valor
Plaquetas t 0 h	214 $\pm$ 77	220 $\pm$ 113	0,5629
Plaquetas t 24 h	218 $\pm$ 77	208 $\pm$ 111	0,4066
Plaquetas t 48 h	217 $\pm$ 92	188 $\pm$ 101	0,2285
Plaquetas t 72 h	239 $\pm$ 131	170 $\pm$ 91	0,0455

► DS, desvío estándar; t, tiempo; h, horas.

mente mayor que el del grupo control a partir de las 24 horas de internación y, además, este hecho resulta más evidente según aumentan los días de internación.

#### Plaquetopenia en pacientes sépticos

Otro dato importante a analizar fue la relación existente entre la sepsis y la plaquetopenia. En este sentido, se evaluó si los pacientes con diagnóstico de sepsis presentaban plaquetopenia asociada. De los resultados obtenidos en este análisis, surge que no se puede considerar la plaquetopenia como una consecuencia asociada a la sepsis.

#### Recuento plaquetario en pacientes sépticos: alta vs. óbito

Al comparar las medias del recuento de plaquetas entre aquellos pacientes que obtuvieron el alta con las de aquellos que murieron, se observó que existe diferencia significativa solo a partir de las 72 horas de internación (Tabla 3); es decir, que existe evidencia significativa para inferir que aquellos pacientes sépticos que mueren tienen menor cantidad de plaquetas que los que obtienen el alta a partir de las 72 horas de su internación.

#### VPM en pacientes sépticos: alta vs. óbito

En la comparación de medias del VPM entre aquellos pacientes que obtuvieron el alta desde su internación y aquellos que murieron, los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas a partir de las 24 horas de internación (Tabla 4); es decir, que existe evidencia significativa para inferir que aquellos pacientes sépticos que mueren tienen un VPM mayor que los que obtienen el alta a partir de las 24 horas de su internación.

#### VPM como predictor de mortalidad

En el análisis realizado, además de comparar los VPM de aquellos pacientes sépticos que obtuvieron el alta luego de su internación con aquellos que murieron, se intentó establecer un valor de corte que pudiera ser utilizado como predictor de mortalidad de los mismos. Utilizando un valor de VPM de 10,0 fL, determinado como el límite superior del rango de referencia propuesto por bibliografía anteriormente, se observó que aquellos pacientes que murieron presentaron un valor medio de VPM a partir de las 24 horas de internación superior a 10,0 fL.

**Tabla 4.** Volumen plaquetario medio al ingreso a terapia intensiva y a las 24, 48 y 72 horas posteriores en pacientes sépticos que obtuvieron el alta vs. aquellos que fallecieron.

	Pacientes sépticos que obtuvieron el alta Media $\pm$ DS (fL)	Pacientes sépticos que fallecieron Media $\pm$ DS (fL)	p - valor
VPM t 0 h	10,56 $\pm$ 0,67	11,60 $\pm$ 1,55	0,1092
VPM t 24 h	10,55 $\pm$ 0,66	11,92 $\pm$ 1,63	0,0004
VPM t 48 h	10,55 $\pm$ 0,89	11,98 $\pm$ 1,60	0,0104
VPM t 72 h	10,93 $\pm$ 1,79	11,96 $\pm$ 1,54	0,0540

► VPM, volumen plaquetario medio; DS, desvío estándar; t, tiempo; h, horas

## Discusión

Los cambios observados en el valor del VPM se podrían explicar como un mecanismo de respuesta adaptativa a la pérdida aguda de plaquetas durante el estadio inflamatorio<sup>16,17</sup>. En condiciones fisiológicas, el recuento de plaquetas en sangre periférica y la trombopoyesis de los megacariocitos de la médula ósea están interregulados. En presencia de trombopoyetina (TPO), el megacariocito produce, en primera instancia, proplaquetas que, posteriormente, formarán las plaquetas maduras de la circulación periférica. Se sabe que las plaquetas jóvenes poseen mayor VPM<sup>9,17</sup>. Sin embargo, este proceso podría no ser suficiente cuando el requerimiento de plaquetas se da en forma aguda. Existe un mecanismo rápido de producción de plaquetas que implica la rápida fragmentación del citoplasma del megacariocito. Estas plaquetas exhiben un aumento del VPM y su morfología también es diferente. Este modo de liberar plaquetas jóvenes permitiría restaurar el *pool* circulante de las mismas en situaciones de consumo, como sucede en el caso de los pacientes sépticos. Sin embargo, estas plaquetas podrían tener importantes diferencias funcionales debido a una menor organización de sus microtúbulos y, por lo tanto, podrían contribuir a un mal impacto clínico en estos pacientes, ya que las alteraciones en el volumen de las plaquetas son predictivas de eventos trombóticos<sup>9,16</sup>.

En este trabajo, se buscó determinar si el uso del VPM, un biomarcador reportado en el hemograma de rutina y que se viene usando con relativo éxito en patología cardiovascular, metabólica e inflamatoria/infecciosa, serviría como un indicador de pronóstico de severidad y mortalidad en pacientes sépticos<sup>15</sup>. Los resultados obtenidos permiten confirmar lo reportado en trabajos anteriores en cuanto a que el VPM es un predictor de mala evolución. Además, se observó que a partir las 24 horas de internación, el aumento del VPM es significativamente mayor y se vuelve aún más evidente a las 48 y 72 horas luego de la internación. En los pacientes que fallecieron, el recuento plaquetario resultó significativamente menor a las 72 horas de internación y el VPM, significativamente mayor a las 24 horas, en comparación con pacientes que obtuvieron el alta. En cuanto al punto de corte para predecir mortalidad, se pudo confirmar que el valor de 10,0 fL establecido en la bibliografía para la metodología utilizada es superado a partir de las 24 horas de internación en los pacientes que fallecieron.

Validar el VPM como biomarcador de pronóstico en sepsis significaría sumar una herramienta práctica y rápidamente disponible. No se cuenta con un punto de corte establecido, dado que los valores varían de acuerdo con la población estudiada, la técnica utilizada para medirlo y el tiempo de realización de la prueba. Es una línea de investigación interesante que implica un biomarcador asequible, pero se requieren estudios con mayor número de pacientes que definan su potencial utilidad.

## Agradecimientos

Agradecemos al equipo del Hospital Italiano por brindar los recursos y herramientas necesarios para llevar a cabo este estudio y, en especial, al Jefe del Servicio del Laboratorio Central,

Dr. Mario Cipolletta, y la Jefa de Docencia del Laboratorio, Dra. Raquel Kaplan.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

## Referencias bibliográficas

- Calzada A, Navarro J, Delgado L, Torres O, Grarillo J, Sanchez J, et al. Utilidad del volumen plaquetario medio para descartar sepsis. *Rev Asoc Mex Med Crit Ter Int* 2016; 30(2):87-94.
- Perez J, Llerena M, Piedra M, Perez E. Biomarcadores en la sepsis y su valor predictivo. *Rev Cub Medi Int Emerg* 2020; 19(1):e651.
- Prado-Díaz A, Castillo A, Rojas D, Chavez-Vivas M. Marcadores moleculares en el diagnóstico y pronóstico de sepsis, sepsis grave y choque séptico. *Rev Fac Med* 2017; 65(1):145-55.
- Miguel Bayarri V, Casanoves-Laparra E, Pallas-Beneyto L, Sancho-Chinesta S, Martín-Osorio L, Tormo-Calandín C, et al. Valor pronóstico de los biomarcadores procalcitonina, interleukina 6 y proteína C reactiva en la sepsis grave. *Med Intensiva* 2012; 36(8):556-562.
- Rhee C, Jones T, Hamad Y, Pande A, Varon J, O'Brien C, et al. Prevalence, Underlying Causes and Preventability of Sepsis-Associated Mortality in US Acute Care Hospitals. *Crit Care Med* 2019; 2(2):187571.
- Merlan M, Aguilar E, Gonzalez M. Relación entre el diagnóstico precoz y la mortalidad por sepsis: nuevos conceptos. *Medicent Electrón* 2021; 25(2):265-290.
- Singer M, Deutschman CS, Warren C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315:801-10.
- Holgado A, Guadiana L, Fernandez-Carballido A, Albaladejo M. Sepsis biomarkers: A review. *An Real Acad Farm* 2017;83(2):175-187.
- Fanny Vardon-Bounes F, Gratacap MP, Groyer S, Ruiz S, Georges B, Seguin T, et al. Kinetics of mean platelet volume predicts mortality in patients with septic shock. *PLoS ONE* 2019; 14(10):e0223553.
- Abad T, Cermelj M, Scoles G. Trombocitopenia como factor de riesgo de morbi-mortalidad en los pacientes hospitalizados en una Unidad de Terapia Intensiva. *Hematología* 2021; 25(1):9-18.
- XIII Congreso Argentino de Hemostasia y Trombosis, Sociedad Argentina de hematología. El paciente trombocitopénico en la Unidad de Cuidados Intensivos. *Hematología* 2018; 22:30-36.
- Marco-Schulke C, Sanchez-Casado M, Hortiguera-Martin V, Quintana-Diaz M, Rodríguez-Villar S, Perez-Pedrero M, et al. Trombocitopenia grave al ingreso en una unidad de cuidados intensivos en pacientes con disfunción orgánica. *Med Intensiva* 2012; 36(3):185-192.
- Greinacher A, Selleng S. How I evaluate and treat thrombocytopenia in the intensive care unit patient. *Blood* 2016; 128(26):3032-3042.
- Korniluk A, Koper-Lenkiewicz O, Kaminska J, Kemona H, Dymick-Pierkarska V. Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. *Mediators of Inflamm*. 2019; 17(2019):1-14
- Velez JL. ¿El volumen medio plaquetario es un predictor de mortalidad en pacientes sépticos? Revisión de la literatura. *Rev Med Hered*. 2018; 29:116-120.
- Carrillo R, Carrillo D. Volumen Plaquetario medio, su significado en la práctica clínica. *Med Sur* 2013; 20(1):17-20.
- Hernandez Y, Castillo D. *Rev Cub Hema Inmunol Hemo* 2022; 38(1):e1446.
- Mavrommatis A, Theodoris T, Orfanidou A, Roussos C, Christopoulou-Kokkinou V, Zakynthinos S, et al. Coagulation system and platelets are fully active in uncomplicated sepsis. *Crit Care Med* 2000;28:451-457.
- Vincent J, Yagushi A, Lobo FLM, Pradier O. Platelet function in sepsis. *Crit Care Med* 2002;30:S313-S317.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Evaluación del desempeño diagnóstico de tres ensayos serológicos para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2

*Evaluation of the diagnostic performance of three serological assays for the detection of IgG assays against SARS-CoV-2*

Alcalde, María Belén<sup>1\*</sup>; Chiodini, Julieta<sup>1</sup>; Shepherd Safar, Melanie<sup>1</sup>; Accorinti, Ailin<sup>1</sup>; Alegre, María<sup>1</sup>; González, María Sandra<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio Central, Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica". La Plata, Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Alcalde, María Belén. Laboratorio Central, Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica", Calle 14 n°1651, La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina; [alcaldemariabelen@gmail.com](mailto:alcaldemariabelen@gmail.com).

## Resumen

**Introducción:** En respuesta a la pandemia de COVID-19 se han desarrollado y aprobado con celeridad un gran número de pruebas serológicas, en diferentes formatos, para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2. Dada la gran oferta y variabilidad entre ensayos, la evaluación independiente de su rendimiento resulta fundamental. **Objetivos:** El objetivo de este trabajo fue analizar y comparar el desempeño diagnóstico de tres métodos de detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 disponibles en nuestro medio. **Materiales y métodos:** Se evaluaron tres tipos de ensayos serológicos, un inmunoensayo quimioluminiscente (Access® SARS-CoV-2 IgG), un enzimoimmunoensayo (COVIDAR IgG) y un inmunoensayo de flujo lateral (SARS-CoV-2 Antibody Test), utilizando muestras de suero de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada, y sueros recolectados antes del inicio de la pandemia. **Resultados:** Se procesaron un total de 168 muestras, 94 sueros de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada y 74 sueros prepandemia. Las sensibilidades de los métodos evaluados variaron entre 71,3 % y 89,4 %. La sensibilidad del ensayo COVIDAR IgG resultó ser significativamente mayor que la de los otros dos métodos ( $p < 0,05$ ). Las especificidades variaron entre 95,9 % y 100 %, sin diferencias significativas entre los tres métodos. Se encontró una concordancia sustancial entre el ensayo COVIDAR IgG y el Access® SARS-CoV-2 IgG (índice kappa: 0,74), y casi perfecta entre el SARS-CoV-2 Antibody Test y los otros dos ensayos (índices kappa: 0,80 y 0,89). **Conclusiones:** Este estudio demuestra un adecuado desempeño de los tres ensayos en nuestra población y la existencia de concordancia entre los mismos.

**Palabras claves:** COVID-19, SARS-CoV-2, serología, evaluación, diagnóstico, sensibilidad, especificidad.

## Abstract

**Introduction:** In response to the COVID-19 pandemic, a large number of serological tests for the detection of antibodies against SARS-CoV-2, in different formats, have been rapidly developed and approved. Given the large offer and variability between assays, independent evaluation of their performance is essential. **Objectives:** The objective of this work was to analyze and compare the diagnostic performance of three anti-SARS-CoV-2 IgG antibody detection methods available in our environment. **Materials and methods:** Three types of serological assays were evaluated, a chemiluminescent immunoassay (Access® SARS-CoV-2 IgG), an enzyme immunoassay (COVIDAR IgG) and a lateral flow immunoassay (SARS-CoV-2 Antibody Test), using serum samples from individuals with overcome SARS-CoV-2 infection, and sera collected before the start of the pandemic. **Results:** A total of 168 samples were processed, 94 sera from individuals with overcome SARS-CoV-2 infection and 74 pre-pandemic sera. The sensitivities of the methods tested varied between 71.3% and 89.4%. The sensitivity of the COVIDAR IgG assay was found to be significantly higher than that of the other two methods ( $p < 0.05$ ). The specificities varied between 95.9% and 100%, with no significant differences between the three methods. Substantial agreement was found between the COVIDAR IgG assay and the Access® SARS-CoV-2 IgG assay (kappa coefficient: 0.74) and almost perfect agreement between the SARS-CoV-2 Antibody Test and the other two assays (kappa coefficients: 0.80 and 0.89). **Conclusions:** This study demonstrates adequate performance of the three assays in our population and the existence of concordance between them.

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, serology, evaluation, diagnosis, sensitivity, specificity.

## Introducción

El coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2) fue identificado por primera vez en enero de 2020 como el agente causal de un brote de neumonía en el municipio de Wuhan, China<sup>1,2</sup>. Desde entonces, los casos de enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) causada por SARS-CoV-2 se han diseminado rápidamente a través de todo el mundo, lo que condujo a la OMS a declarar, el 11 de marzo de 2020, el estado de pandemia<sup>3</sup>.

En este contexto, cientos de pruebas diagnósticas para la detección de infección por SARS-CoV-2 comenzaron a desarrollarse<sup>4</sup>. Las pruebas de diagnóstico directas, basadas en la detección del genoma viral o de antígenos virales cumplen, en la actualidad, un rol clave en el manejo del paciente y la contención de la pandemia. Estas pruebas son utilizadas eficientemente para el diagnóstico de infección aguda por SARS-CoV-2, pero su desempeño clínico disminuye progresivamente durante el curso de la enfermedad, asociado al aclaramiento viral<sup>5</sup>. Los métodos de diagnóstico indirectos, basados en la detección de anticuerpos anti-SARS-CoV-2, por lo contrario, tienen una utilidad limitada en el diagnóstico de la etapa aguda de la enfermedad, cuando la respuesta de anticuerpos aún no se ha desarrollado, pero son fundamentales para la determinación de exposición previa al SARS-CoV-2, especialmente en pacientes con potencial síndrome posCOVID-19, en la realización de estudios de seroprevalencia y en la identificación de donantes de plasma de convaleciente. Además, adquieren importancia en el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, en casos con resultados por técnicas moleculares no concluyentes y en la evaluación de la inmunidad humoral posvacunación<sup>6-8</sup>.

Las características de la respuesta de anticuerpos a la infección por SARS-CoV-2 varían significativamente entre individuos, especialmente en lo que respecta a la cinética, clases de inmunoglobulinas y especificidad antigénica<sup>6,9</sup>. En la mayoría de los

pacientes con COVID-19, los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 son detectables tres semanas después de la infección con una seroconversión simultánea o cercana de las inmunoglobulinas IgM e IgG<sup>6,10</sup>. Sin embargo, el conocimiento sobre su persistencia y la protección que confieren aún es escaso<sup>11,13</sup>. Los anticuerpos anti-SARS-CoV-2 se dirigen contra diferentes proteínas estructurales del virus, de las cuales los principales inmunógenos son las proteínas espiga (S) y nucleocápside (N). Los ensayos serológicos a menudo utilizan como antígenos recombinantes las proteínas N, S y el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S<sup>14</sup>. A su vez, estos métodos pueden detectar uno o más isotipos de inmunoglobulinas (IgA, IgM o IgG) generadas contra el SARS-CoV-2. El desempeño de estas pruebas depende en gran medida del subdominio de la proteína elegido; del plegamiento resultante y, para algunos antígenos, de la conservación de la glicosilación de la proteína, además de la metodología empleada; del isotipo de inmunoglobulina detectada; del tiempo transcurrido desde la infección y de la población en la que se evalúan<sup>11,15</sup>.

En respuesta a la urgencia, se han desarrollado y aprobado con celeridad un gran número de pruebas serológicas comerciales para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, en distintos formatos, que abarcan desde inmunoensayos de flujo lateral (LFIA) hasta enzimoimmunoensayos de adsorción (ELISA) e inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA). Dada la gran oferta y variabilidad entre los distintos ensayos de detección de anticuerpos, la evaluación y verificación independientes de su rendimiento son fundamentales<sup>16,18</sup>. El objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el desempeño diagnóstico de tres métodos de detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 disponibles en el Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor María Ludovica", utilizando muestras de suero positivas y negativas bien definidas.

La importancia del estudio radica en aportar evidencia sobre

**Tabla I.** Resultados de los tres métodos serológicos.

	Resultado ensayo	COVID-19 Positivo N	COVID-19 Negativo N
Access® SARS-CoV-2 IgG	Positivo	67	0
	Negativo	27	74
	Indeterminado	0	0
COVIDAR IgG	Positivo	84	3
	Negativo	7	70
	Indeterminado	3	1
SARS-CoV-2 Antibody Test	Positivo	74	2
	Negativo	12	70
	Indeterminado	8	2

la utilidad diagnóstica de estos ensayos aplicados en nuestra población y sobre la toma de decisiones con respecto a su uso.

## Materiales y métodos

### Población y muestras

Se realizó un estudio analítico, de corte transversal para la evaluación y comparación de tres métodos serológicos de detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2. Se utilizaron muestras de suero recolectadas por conveniencia, de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada, y sueros recogidos antes del comienzo de la circulación de SARS-CoV-2 en Argentina, por lo que se asumieron como negativos.

Las muestras de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada fueron obtenidas de sujetos que concurren al Instituto de Hemoterapia de la Provincia de Buenos Aires para la preselección de potenciales donantes de plasma de convaleciente, durante el mes de junio de 2021. Entre los requisitos que debieron cumplir estos individuos se incluyeron: poseer un diagnóstico de COVID-19 confirmado por laboratorio (RT-PCR positiva o detección de anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2), haber transcurrido 30 días desde la desaparición de los síntomas y tener entre 18 y 65 años. Estas muestras fueron consideradas COVID-19 positivas. En cambio, las muestras prepandemia correspondieron a sueros recolectados durante el año 2019 por el Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños "Sor María Ludovica" de La Plata (IDIP), almacenados a -20°C. Las mismas pertenecían a mujeres con edades comprendidas entre 17 y 38 años (25/74) y niños de 3 meses a 1 año (46/74) que concurren al Observatorio de salud materno - infantil del IDIP. Estas muestras fueron consideradas COVID-19 negativas.

Las muestras positivas fueron procesadas el mismo día de su recolección por los tres métodos serológicos, en tanto que las negativas fueron descongeladas y analizadas en un único día.

### Ensayos serológicos

Se utilizaron y evaluaron los siguientes ensayos serológicos:

- COVIDAR IgG (Laboratorio Lemos® SRL, Argentina), un ELISA heterogéneo, no competitivo, para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el virus SARS-CoV-2, el cual utiliza antígenos obtenidos por técnica de ADN recombinante que representan la proteína Spike (S) y un dominio de esta misma proteína que contiene el sitio de unión a receptor (RDB). El ensayo se llevó a cabo de forma manual, siguiendo las especificaciones del fabricante, y el punto de corte para la interpretación de los resultados fue calculado según las mismas especificaciones.
- Access® SARS-CoV-2 IgG, un CLIA de partículas paramagnéticas recubiertas, con el dominio de unión a receptor (RDB) de la proteína S del SARS-CoV-2 como antígeno recombinante específico. El ensayo se llevó a cabo de forma automatizada en un equipo Access®2 Immunoassay System (Beckman Coulter® Inc., Estados Unidos), de acuerdo con las especificaciones del fabricante.
- SARS-CoV-2 *Antibody Test* (Lepu Medical® Technology, China), un LFIA que utiliza una proteína recombinante no especificada del SARS-CoV-2, marcada con oro coloidal, para la detección de anticuerpos IgG e IgM contra el virus. El ensayo se realizó siguiendo las especificaciones del fabricante. Se efectuó únicamente la lectura correspondiente a los anticuerpos del isotipo IgG.

**Tabla II.** Desempeño diagnóstico de los tres ensayos serológicos.

	Access® SARS-CoV-2 IgG	COVIDAR IgG	SARS-CoV-2 <i>Antibody Test</i>
Sensibilidad	71,3 % (62,1 - 80,4)	89,4 % (83,1 - 95,6)	78,7 % (70,4 - 87,0)
Especificidad	100,0 % (95,1-100,0)	95,9 % (91,5 - 100,0)	97,3 % (93,6 - 100,0)
VPP P= 5 %	100 % (94,6-100,0)	53,4 % (34,0 - 100,0)	61,4 % (36,7 -100,0)
VPN P= 5 %	98,5 % (98,0 - 100,0)	99,4 % (99,0 - 99,8)	98,9 % (98,4 - 99,3)
VPP P= 50 %	100 % (94,6-100,0)	95,6 % (90,7 - 100,0)	96,7 % (91,7 - 100,0)
VPN P= 50 %	77,7 % (72,5 - 83,6)	90,0 % (84,4 - 95,8)	82,0 % (76,0 - 88,5)
VPP P= 95 %	100 % (99,2-100,0)	99,8 % (99,5 - 100,0)	99,8 % (99,5 - 100,0)
VPN P= 95 %	15,5 % (12,2 - 21,7)	32,3 % (22,2 - 54,5)	19,4 % (14,3 - 28,8)
Índice de Youden	0,71	0,85	0,76

► VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; P, prevalencia de COVID-19.

### Análisis de datos

Para cada ensayo serológico, se calculó: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) con sus respectivos intervalos de confianza (IC 95 %), según el método de Wilson, con base en la caracterización antes descrita de las muestras, es decir, COVID-19 positivas o negativas. Los resultados indeterminados por ELISA y CLIA [zona gris] fueron considerados negativos para el cálculo de los parámetros de desempeño diagnóstico. Por otro lado, la aparición de una banda muy tenue de interpretación ambigua en el LFIA se registró como resultado indeterminado y fue considerado negativo para la realización de los cálculos. Los resultados reactivos y no reactivos por ELISA y CLIA fueron expresados como positivos y negativos, respectivamente, con fines prácticos. Se evaluó la existencia de diferencias entre las sensibilidades y especificidades de los distintos métodos y se consideró estadísticamente significativo un p-valor < 0,05. El índice de Youden fue calculado para analizar el desempeño global de cada prueba en función de los resultados cualitativos obtenidos, mientras que las curvas de característica operativa del receptor (ROC) fueron generadas para evaluar a través del valor del área bajo la curva (AUC) el rendimiento diagnóstico de los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, utilizando los resultados expresados como índice S/CO (S: señal de la muestra; CO: señal del límite de decisión) que estos arrojaran.

Se evaluó la concordancia entre los métodos estudiados a través del cálculo del índice kappa, precisando su IC 95 %, y se utilizó la valoración propuesta por Landis y Koch para interpretar los índices obtenidos [kappa: 0,0 – 0,20 = sin acuerdo; 0,21 – 0,39 = grado de acuerdo mínimo; 0,40 – 0,59 = acuerdo discreto; 0,60 – 0,79 = acuerdo moderado; 0,80 – 0,90 = acuerdo sustancial; > 0,90 = acuerdo casi perfecto]. Para evaluar la correlación entre los índices S/CO que arrojaron los inmunoensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, se calculó el coeficiente de correlación de Spearman.

Los datos se recolectaron en planillas de Microsoft® Excel y para el análisis estadístico, se utilizó el programa IBM® SPSS Statistics.

### Consideraciones éticas

El trabajo fue aprobado por el Comité Institucional de Revisión de Protocolos de Investigación del Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños “Sor María Lu-

dovica”, observando las normas declaradas en los siguientes documentos para la investigación en salud humana: *Declaración de Helsinki*, pautas CIOMS – OMS (Ginebra 2002), guías de buenas prácticas clínicas (GCP), Conferencia de Armonización, declaraciones y pactos a los que adhiere la República Argentina con jerarquía constitucional y las declaraciones universales e internacionales de la UNESCO aplicables a la investigación biomédica.

### Resultados

Se analizaron un total de 168 muestras, 94 sueros de individuos con infección por SARS-CoV-2 superada y 74 sueros recolectados antes del inicio de la pandemia, por medio de los tres métodos serológicos para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla I.

La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fueron estimados para cada test con sus respectivos IC 95 %, como se detalla en la tabla II. Los VPP y VPN fueron calculados asumiendo distintos escenarios de prevalencia de COVID-19.

Las sensibilidades de los métodos ensayados variaron entre 71,3 % [Access® SARS-CoV-2 IgG] y 89,4 % [COVIDAR IgG]. Mientras que la sensibilidad del ELISA [COVIDAR IgG] resultó ser significativamente mayor que la de los otros dos métodos (p < 0,05), no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las sensibilidades del CLIA [Access® SARS-CoV-2 IgG] y el LFIA [SARS-CoV-2 *Antibody Test*]. De las 94 muestras caracterizadas como COVID-19 positivas, 9 dieron resultados negativos o indeterminados por los tres métodos a la vez, otras 11 lo hicieron por dos de los métodos simultáneamente y 8 resultaron negativas o indeterminadas solo por uno de los ensayos a la vez.

En cuanto a las especificidades, variaron entre 95,9 % [COVIDAR IgG] y 100 % [Access® SARS-CoV-2 IgG], y no se encontraron diferencias significativas entre los tres métodos. El ensayo quimioluminiscente Access® SARS-CoV-2 IgG no arrojó ningún resultado falso positivo; por el ensayo de flujo lateral SARS-CoV-2 *Antibody Test* se obtuvieron dos resultados positivos y dos resultados indeterminados para muestras caracterizadas como COVID-19 negativas; en tanto que el enzimoensayo COVIDAR IgG arrojó un resultado indeterminado y tres resultados falsos positivos, dos de ellos presentaron un índice S/CO cercano al valor de corte, y el tercero, un índice S/CO ele-

**Tabla III.** Concordancia entre los tres ensayos serológicos analizados.

	Índice kappa (IC 95 %)	
	Access® SARS-CoV-2 IgG	COVIDAR IgG
SARS-CoV-2 <i>Antibody Test</i>	0,89 [0,74 - 1,00]	0,80 [0,65 - 0,95]
COVIDAR IgG	0,74 [0,60 - 0,89]	-

vado. Las cuatro muestras negativas que arrojaron resultados positivos o indeterminados por el ELISA (COVIDAR IgG) fueron negativas por los otros dos métodos, y lo mismo sucedió con las cuatro muestras negativas que dieron resultados positivos o indeterminados por el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*).

Como se muestra en la tabla I, el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) fue el ensayo que arrojó la mayor cantidad de resultados indeterminados, en tanto que por el CLIA (Access® SARS-CoV-2 IgG) no se obtuvo ningún resultado en zona gris.

Para evaluar el desempeño de los ensayos en escenarios de baja, media y alta prevalencia de infección por SARS-CoV-2, se calcularon los valores predictivos positivos y negativos para cada uno de los ensayos, asumiendo una prevalencia de COVID-19 del 5 %, 50 % y 95 % y utilizando los hallazgos de sensibilidad y especificidad del presente estudio. Los tres métodos mostraron un alto VPN en un escenario de baja prevalencia de la enfermedad, sin embargo, el ELISA (COVIDAR IgG) y el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) mostraron un bajo VPP en estas condiciones (53,4 % y 61,4 %, respectivamente). En escenarios de alta prevalencia, los VPP variaron entre 95,6 % y 100 %.

Por otro lado, al calcular el índice de Youden para evaluar el desempeño global de cada prueba, el ensayo COVIDAR IgG alcanzó el índice más alto (0,85) y, por lo tanto, el mejor desempeño (Tabla II). Además, para los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG fueron calculadas las curvas ROC, usando los valores de corte que especifica cada fabricante, y se obtuvieron valores de áreas bajo las curvas de 0,96 y 0,97 para el COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, respectivamente, como se muestra en la figura 1, lo que indica un rendimiento diagnóstico muy bueno para ambos ensayos.

Se evaluó, también, la concordancia de los resultados cualitativos obtenidos por los tres métodos, con base en el cálculo del índice kappa, como se muestra en la tabla III. El grado de acuerdo entre el ensayo de flujo lateral SARS-CoV-2 *Antibody Test* y los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG fue casi perfecto. La mejor concordancia se obtuvo entre el ensayo de flujo lateral y el ensayo quimioluminiscente ( $\kappa = 0,89$ ). La concordancia entre el COVIDAR IgG y el Access® SARS-CoV-2 IgG fue sustancial, pues mostró el menor índice kappa de los calculados ( $\kappa = 0,74$ ).

Finalmente, los resultados de las muestras positivas arrojados por los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG, expresados como índices S/CO, fueron comparados de a pares (Figura 2). Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman y se obtuvo un valor de  $r = 0,911$ , que indicó la existencia de una asociación positiva entre ambos métodos con un nivel de significación del 0,01.

## Discusión

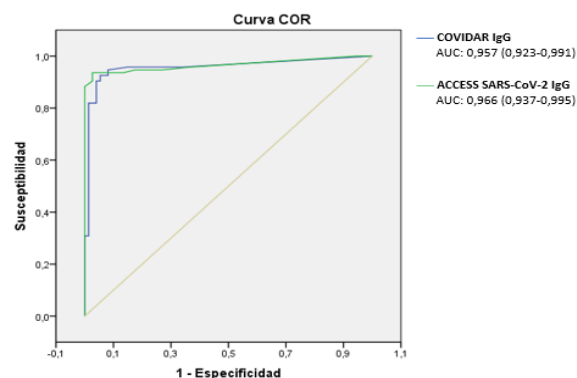
Dada la diversidad de métodos serológicos disponibles para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, la evaluación exhaustiva de estos ensayos resulta necesaria para la toma de decisiones sobre su uso y la interpretación de sus resultados. En este estudio, se evaluó y comparó el desempeño clínico de un inmunoensayo quimioluminiscente (Access® SARS-CoV-2

IgG), un enzoinmunoensayo (COVIDAR IgG) y un inmunoensayo de flujo lateral (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) para la detección de anticuerpos IgG contra SARS-CoV-2, tres ensayos de distinto fundamento metodológico con potencial aplicación en escenarios diferentes. El diseño del estudio incluyó sueros de potenciales donantes de plasma de convaleciente con diagnóstico de COVID-19 confirmado por laboratorio y sueros recolectados antes del inicio de la pandemia, lo que nos permitió contar con muestras positivas y negativas bien definidas para evaluar los parámetros de desempeño diagnóstico de cada prueba en nuestra población, compararlos entre sí y contrastarlos con las especificaciones de los fabricantes y los datos publicados en otros estudios.

En este estudio, los tres ensayos evaluados mostraron excelentes especificidades diagnósticas, comparables entre sí y mayores al 95 % en todos los casos. Los fabricantes enuncian una especificidad del 99,8 %, 97,6 % y 100 % para los ensayos Access® SARS-CoV-2 IgG, SARS-CoV-2 *Antibody Test* y COVIDAR IgG, respectivamente, similares a las de nuestro estudio. Los resultados falsos positivos podrían deberse a la unión no específica de anticuerpos u otras proteínas del suero, así como a la reactividad cruzada con otros virus. Tanto la proteína N como la proteína S muestran un grado de homología variable con otros miembros de la familia de los *Orthocoronavirinae*, por lo tanto, una infección reciente con un coronavirus (CoV) distinto del SARS-CoV-2 podría conducir a un resultado falso positivo<sup>19</sup>.

En general, los distintos métodos serológicos para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2 muestran escasos falsos positivos debido a reactividad cruzada, con una especificidad reportada que oscila entre el 96 % y el 100 %, coincidente con los resultados de nuestro estudio<sup>7,17,20</sup>. Ha et al<sup>21</sup> reportaron en un estudio de desarrollo de ensayos serológicos, en el cual la respuesta específica de anticuerpos fue evaluada de acuerdo con la proteína viral en formato ELISA, una especificidad para la detección de IgG contra SARS-CoV-2 del 98 %, 100%, y 85%, utilizando como antígenos las proteínas S, RBD y N, respectivamente. Esto tiene relación con las especificidades estimadas en nuestro trabajo para COVIDAR IgG (95,9 %), que utiliza a las proteínas S y el dominio RBD como antígenos, y para el ensayo Access® SARS-CoV-2 IgG (100 %), que utiliza únicamente el dominio RBD.

En escenarios de baja seroprevalencia, la especificidad de una prueba es el parámetro de desempeño clínico más relevante y esta debe ser alta para asegurar un VPP aceptable y una menor tasa de resultados falsos positivos; este parámetro debe estar acompañado de una adecuada sensibilidad diagnóstica. Al estimar los VPP de cada prueba en un escenario de 5 % de prevalencia de COVID-19, se evidenció que el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) y el ELISA (COVIDAR IgG) alcanzan un VPP bajo, lo que demuestra que cuando la prevalencia de la infección por SARS-CoV-2 es baja, existe una alta probabilidad de falsos positivos, aun para ensayos con alta especificidad, y esto limita la utilidad de estas pruebas como única herramienta diagnóstica. En cambio, en escenarios de alta prevalencia los tres ensayos mostraron excelentes VPP, lo que justifica su

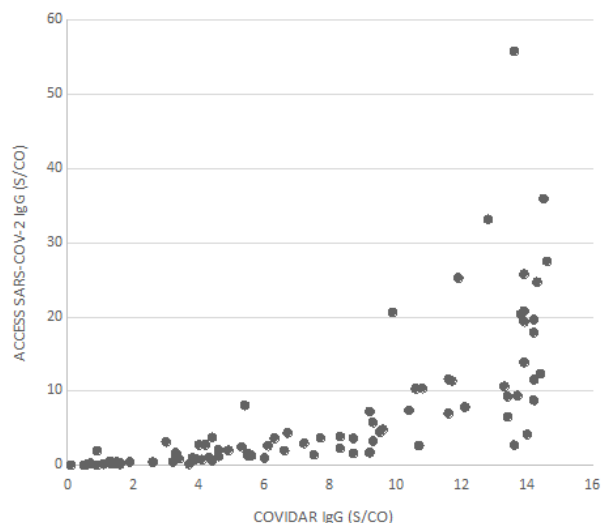
**Figura 1.** Comparación de las curvas ROC para los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG.

► AUC, área bajo la curva.

uso para la detección de anticuerpos en donantes de plasma de convaleciente, en la población vacunada, en pacientes COVID-19 hospitalizados o como complemento de las pruebas RT-PCR para controlar el curso clínico de la enfermedad.

Por otro lado, las sensibilidades de los tres ensayos estimadas en este estudio resultaron menores que las enunciadas por los respectivos fabricantes. Estos reportan una sensibilidad para el Access® SARS-CoV-2 IgG del 100 % en muestras recogidas luego de 18 días de la infección; para el SARS-CoV-2 *Antibody Test*, del 96,8 % (sin especificar el momento de recolección de las muestras) y para el COVIDAR IgG, del 100% entre 20 y 30 días posteriores a la infección. Las diferencias pueden estar relacionadas con la cinética de los anticuerpos, su variabilidad interindividual y el momento posinfección en el que hayan sido determinados. Este estudio no contó con la información del tiempo transcurrido desde la infección en los potenciales donantes de plasma incluidos ni con la expresión clínica de la enfermedad en estos sujetos, lo cual puede tener un gran impacto en la comparabilidad de nuestros resultados con los hallados por los fabricantes. Es posible que en algunos de los sujetos los anticuerpos contra SARS-CoV-2 hubieran aclarado y, por lo tanto, fueran indetectables en el momento de la toma de muestra o que algunos individuos no hubieran desarrollado niveles detectables de anticuerpos contra SARS-CoV-2 en absoluto. En el caso del ensayo LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*), la discrepancia con la sensibilidad declarada por el fabricante también puede atribuirse al efecto de error visual del observador, sobre todo en la interpretación de las bandas tenues. De hecho, el LFIA fue el ensayo que más resultados indeterminados arrojó y que, finalmente, fueron considerados como negativos para el cálculo de los parámetros de desempeño diagnóstico.

Adicionalmente, el ELISA (COVIDAR IgG) mostró una sensibilidad significativamente mayor que la de los otros dos ensayos evaluados y, consecuentemente, un mejor desempeño clínico global. Distintos metaanálisis, hallaron una sensibilidad combinada para ensayos: LFIA, del 78 % [IC 95 %: 71 % - 83 %], CLIA, del 92 % [IC 95 %: 86 % - 95 %], y ELISA, del 86 % [IC 95 %: 82 % - 89 %]<sup>7,17,22</sup>. Las sensibilidades encontradas en estos estudios para los distintos ensayos son concordantes con las

**Figura 2.** Correlación de los resultados de los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG expresados como índices S/CO.

obtenidas en el presente trabajo para el ELISA (COVIDAR IgG) y el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*), con valores estimados del 89,4 % [83,1 - 95,6] y 78,7 % [70,4 - 87,0], respectivamente. Sin embargo, el CLIA (Access® SARS-CoV-2 IgG) mostró una sensibilidad del 71,3 % [62,1 - 80,4], llamativamente menor que la reportada por los metaanálisis para el conjunto de este tipo de ensayos. Distintos factores técnicos pueden influenciar la sensibilidad de las pruebas serológicas, incluida la naturaleza del antígeno utilizado, la densidad del recubrimiento con este último, el tipo de señal generada por cada inmunoensayo y la forma de detectarla, así como la dilución del suero. Desde el punto de vista del recurso antigénico, Ha et al<sup>21</sup> hallaron que la sensibilidad de los ELISA desarrollados para la detección de IgG contra SARS-CoV-2 que utilizan como antígeno la proteína S, RBD o N fue del 89 %, 78 %, 85 %, respectivamente. Esto puede relacionarse con los hallazgos de nuestro estudio, ya que el ensayo de menor sensibilidad (Access® SARS-CoV-2 IgG) usa como antígeno únicamente el dominio RBD de la proteína S y el ensayo de mayor sensibilidad (COVIDAR IgG) utiliza, además del dominio RBD, la proteína S completa. La combinación de más de un target antigénico podría, además, mejorar la sensibilidad del ensayo.

A pesar de las diferencias antes mencionadas, los hallazgos del estudio demuestran una concordancia sustancial entre el ELISA (COVIDAR IgG) y el CLIA (Access® SARS-CoV-2 IgG) y una casi perfecta entre el LFIA (SARS-CoV-2 *Antibody Test*) y los otros dos ensayos, lo que indica que los resultados de los tres métodos son comparables. Además, las curvas ROC generadas para los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG demostraron que ambos métodos poseen un desempeño clínico muy bueno, con una excelente probabilidad de clasificación. Por otro lado, se encontró una fuerte correlación monótona positiva entre los índices S/CO de las muestras de donantes de plasma obtenidos por los ensayos COVIDAR IgG y Access® SARS-CoV-2 IgG.

Dada la comparabilidad de los resultados y el buen desempeño clínico de los tres ensayos evaluados, estos pueden ser utilizados en la práctica clínica, considerando distintos escenarios de aplicación de acuerdo con las ventajas y desventajas de cada metodología. El LFIA resulta propicio para realizar pruebas serológicas a gran escala en entornos que carecen de instalaciones de laboratorio, dado su fácil manejo, la falta de necesidad de instrumentación adicional, el requerimiento de un bajo volumen de muestra, la posibilidad de su aplicación sobre sangre entera y la emisión de resultados rápidos. El ELISA y CLIA son de elección para laboratorios de mayor complejidad y tienen como ventajas la automatización o la posibilidad de automatización, evitar la exposición prolongada a material biológico, un control de calidad disponible que asegura reproducibilidad de lote a lote y resultados que no son propensos a la interpretación subjetiva. El CLIA Access® SARS-CoV-2 IgG, por ser un ensayo totalmente automatizado, resulta la mejor opción para el procesamiento de grandes números de muestras y, dado el desempeño que demostró en el presente estudio, podría ser el ensayo de elección en escenarios de baja prevalencia, mientras que el ELISA COVIDAR IgG mostró el mejor desempeño global, lo que podría transformarlo en la mejor opción para la detección de anticuerpos contra SARS-CoV-2, especialmente en escenarios de alta prevalencia.

Cabe mencionar como limitaciones de este estudio el desconocimiento del tiempo exacto transcurrido desde la infección hasta la toma de muestra de los donantes de plasma de convaleciente y de la gravedad de la enfermedad en estos sujetos, factores que podrían hacer variar los parámetros de desempeño de los distintos ensayos. Por otro lado, también son limitantes del estudio el desconocimiento del antígeno utilizado por el ensayo SARS-CoV-2 *Antibody Test* y el número reducido de muestras analizadas, lo que podría tener impacto en los resultados estadísticos.

En conclusión, este estudio demostró un adecuado desempeño de los tres ensayos evaluados y una buena concordancia entre los mismos, lo que corrobora su utilidad en la práctica clínica como herramienta en el enfoque diagnóstico, en estudios seroepidemiológicos, en el estudio de donantes de plasma y en la evaluación de la inmunidad humoral posvacunal con potencial aplicación de cada ensayo en escenarios diferentes.

Estudios futuros serán determinantes para mejorar la comprensión de la cinética de la respuesta inmune contra el SARS-CoV-2 y evaluar la potencial pérdida de anticuerpos a lo largo del tiempo, así como su capacidad de neutralización viral y protección contra la infección.

### Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. María Victoria Fasano por su colaboración en la revisión del diseño metodológico y el análisis estadístico del presente trabajo; al Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas del Hospital de Niños "Sor María Ludovica" de La Plata (IDIP) por habernos brindado las muestras prepanemia y al Instituto de Hemoterapia de la Provincia del Buenos Aires por brindarnos las muestras de los potenciales donantes

de plasma de convaleciente.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflicto de intereses.

### Referencias bibliográficas

1. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265-269.
2. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):536-544.
3. Adhanom Ghebreyesus T. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. Ginebra, Suiza: World Health Organization; 2020 [consultado: 12 dic 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19--11-march-2020>.
4. Dong GP, Guo XJ, Sun YA, Zhang Z, Du LP, Li MY. Diagnostic Techniques for COVID-19: A Mini-review of Early Diagnostic Methods. *J Anal Test*. 2021;5(4):314-326.
5. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020; 26(5):672-675.
6. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun*. 2020;11(1):4704.
7. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*. 2021;34(3):e00228-20.
8. Krone M, Güttling J, Wagener J, Lâm TT, Schoen C, Vogel U, et al. Performance of three SARS-CoV-2 immunoassays, three rapid lateral flow tests and a novel bead-based affinity surrogate test for the detection of SARS-CoV-2 antibodies in human serum. *J Clin Microbiol*. 2021;59(8):e0031921.
9. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020;71(16):2027-2034.
10. Ojeda DS, Gonzalez Lopez Ledesma MM, Pallarés HM, Costa Navarro GS, Sanchez L, Perazzi B, et al. Emergency response for evaluating SARS-CoV-2 immune status, seroprevalence and convalescent plasma in Argentina. *PLoS Pathog*. 2021;17(1):e1009161.
11. Emmerich P, von Possel R, Hemmer CJ, Fritzsche C, Geerdes-Fenge H, Menge B, et al. Longitudinal detection of SARS-CoV-2-specific antibody responses with different serological methods. *J Med Virol*. 2021;93(10):5816-5824.
12. Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Steel KJA, Hemmings O, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol*. 2020;5(12):1598-1607.
13. Wu J, Liang B, Chen C, Wang H, Fang Y, Shen S, et al. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. *Nat Commun*. 2021;12(1):1813.
14. Gomes LR, Durans AM, Napoleão-Pêgo P, Waterman JA, Freitas MS, De Sá NBR, et al. Multiepitope Proteins for the Differential Detection of IgG Antibodies against RBD of the Spike Protein and Non-RBD Regions of SARS-CoV-2. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(9):986.
15. Lewin A, Drews SJ, Lieshout-Krikke R, Erikstrup C, Saeed S, Fady H, et al; Surveillance, Risk Assessment, Policy, the Virology Sub-groups of the ISBT Transfusion Transmitted Infectious Diseases Working Party. An international comparison of anti-SARS-COV-2 assays used for seroprevalence surveys from blood component providers. *Vox Sang*. 2021;116(9):946-954.

16. Tešija Kuna A, Hanžek M, Vukasovi I, Nikolac Gabaj N, Vidranski V, elap I, et al. Comparison of diagnostic accuracy for eight SARS-CoV-2 serological assays. *Biochem Med (Zagreb)*. 2021;31(1):010708.
17. Ong DSY, Fragkou PC, Schweitzer VA, Chemaly RF, Moschopoulos CD, Skevaki C, et al. How to interpret and use COVID-19 serology and immunology tests. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(7):981-986.
18. Jacot D, Moraz M, Coste AT, Aubry C, Sacks JA, Greub G, et al. Evaluation of sixteen ELISA SARS-CoV-2 serological tests. *J Clin Virol*. 2021;142:104931.
19. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-574.
20. Mekonnen D, Mengist HM, Derbie A, Nibret E, Munshea A, He H, et al. Diagnostic accuracy of serological tests and kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibody: a systematic review and meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2021;31(3):e2181.
21. Ha B, Jadhao S, Hussaini L, Gibson T, Stephens K, Salazar L, et al. Evaluation of a SARS-CoV-2 Capture IgM Antibody Assay in Convalescent Sera. *Microbiol Spectr*. 2021;9(2):e0045821.
22. Gong F, Wei HX, Li Q, Liu L, Li B. Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID-19 Diagnosis. *Front Mol Biosci*. 2021;8:682405.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Estudio del valor de Ct y el polimorfismo D/I del gen ECA1 en la respuesta al SARS-COV-2

*Study of the impact of the ACE1 I/D polymorphism and SARS-COV-2 Ct value on COVID-19 infection*

Quintana, Silvina<sup>1,2\*</sup>; Giustina, Silvina<sup>1</sup>; Montiel Belmonte, Javier<sup>1</sup>; Di Gerónimo, Vanesa Mariana<sup>1</sup>; Fedele, Stefanía<sup>1</sup>; Sanz, Yamila<sup>1</sup>; Ligorino, Gisela<sup>1</sup>; Gorla, Natalia<sup>1</sup>; Giletto, Giuliana<sup>3</sup>; Rivero, Mariana<sup>4</sup>; Fares Taie, Hernán<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Fares Taie Biotecnología, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Producción Sanidad y Ambiente, CONICET-CIC, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil "Don Victorio Tetamanti". Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Centro de Investigación Veterinaria de Tandil, CONICET-CIC, Fac. Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil, Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Quintana, Silvina. Laboratorio de Biología Molecular, Fares Taie Biotecnología, Rivadavia 3343, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina; biologiamolecular@farestaie.com.ar.

**Resumen** El gen de la ECA1 [Enzima convertidora de la Angiotensina] presenta un polimorfismo [rs4646994] de inserción/delección [I/D]. La delección se ha asociado con una menor expresión de ECA2, el receptor de SARS-Cov-2. Se ha estudiado que el valor de Ct (*cycle threshold*) para SARS-Cov-2 tiene relación con el desarrollo de síntomas. Nuestro objetivo fue evaluar si el polimorfismo rs4646994 está vinculado a la susceptibilidad a SARS-Cov-2 y si el Ct influye en el desarrollo de síntomas. Se estudiaron 658 individuos no relacionados, 325 individuos no infectados, 132 portadores asintomáticos y 201 individuos sintomáticos en los cuales la presencia o ausencia del virus SARS-Cov-2 fue determinada mediante *kit* comercial de RT-qPCR. Se registró edad, sexo, valor de Ct, así como los síntomas de cada individuo. Las muestras se genotipificaron para rs4646994. Se encontraron diferencias significativas entre la presencia de síntomas y el valor de Ct [asintomáticos: Ct= 23,84 vs. sintomáticos: Ct= 20,22,  $p < 0,001$ ]. Se encontraron diferencias significativas entre la presencia de malestar general, fiebre, cefalea, odinofagia, tos, mialgia, anosmia y el valor de Ct, ( $p < 0,001$ ). La frecuencia del alelo D en los no infectados fue de 0,51, mientras que en el grupo de portadores asintomáticos de SARS-Cov-2 fue de 0,54 y de 0,53, en los sintomáticos, sin mostrar diferencias significativas entre los tres grupos. Nuestros resultados sugieren que el polimorfismo rs4646994 no estaría vinculado a la susceptibilidad al SARS-Cov-2 en nuestra población y que la carga viral, analizada como valor de Ct, influye en la aparición de algunos síntomas.

**Palabras clave:** COVID-19, valor de Ct, polimorfismo del gen ECA1, síntomas, susceptibilidad genética.

**Abstract** The Angiotensin Converting Enzyme [ACE1] gene presents an insertion/deletion [I/D] polymorphism [rs4646994]. The deletion has been associated with a lower expression of ACE2, the SARS-Cov-2 receptor. It has been described that the SARS-Cov-2 cycle threshold [Ct] value is related to the development of symptoms. Our objective was to evaluate whether the rs4646994 polymorphism is linked to the susceptibility to SARS-Cov-2 infection and whether the Ct value influences the development of symptoms. We studied 658 unrelated individuals: 325 uninfected individuals, 132 asymptomatic carriers and 201 symptomatic individuals, in whom the presence/absence of SARS-Cov-2 in a nasopharyngeal swab sample was determined using a commercial RT-qPCR kit. The age, gender, Ct value, and symptoms of each individual were recorded. Samples were genotyped by PCR for rs4646994. No differences were found in the age and gender of SARS-Cov-2-positive patients, or in the presence of symptoms. Significant differences were found between the presence of symptoms and the Ct value [asymptomatic Ct: 23.84 vs symptomatic Ct: 20.22,  $p < 0.001$ ]. Significant differences were found between the presence of general malaise, fever, headache, odynophagia, cough, myalgia and anosmia and the Ct value ( $p < 0.001$ ). The D allele frequency in uninfected individuals was 0.51, whereas that in asymptomatic carriers was 0.54 and that in symptomatic ones was 0.53, showing no significant differences between the three groups. Our results suggest that the rs4646994 polymorphism is not linked to the susceptibility to SARS-Cov-2 infection in our population, and that the viral load, analyzed as the Ct value, influences the appearance of some symptoms.

**Key words:** COVID-19, Ct value, ACE1 polymorphism, symptoms, genetic susceptibility.

## Introducción

En diciembre de 2019, China reporta por primera vez la enfermedad llamada COVID-19 (*Coronavirus disease 2019*), causada por un nuevo coronavirus al cual se denominó SARS-Cov-2<sup>1</sup>. Dada su alta tasa de diseminación en el mundo, existen 433.000.000 de casos confirmados y 5.900.000 muertes, al 27/02/2022<sup>2</sup>. La COVID-19 ha mostrado una amplia gama de comportamientos clínicos, desde asintomáticos hasta síndromes de enfermedad respiratoria grave. Los síntomas más habituales que presentan las personas infectadas por SARS-Cov-2 son fiebre, tos, cansancio, pérdida del gusto y/o del olfato. Dentro de los síntomas menos habituales, se encuentran: dolor de garganta, dolor de cabeza, malestar general, diarrea y erupción cutánea. Los síntomas de mayor gravedad son: dificultad para respirar o disnea, pérdida de movilidad o del habla, sensación de confusión y dolor en el pecho<sup>3</sup>.

Hasta el momento, no se conocen para cada población los marcadores asociados a susceptibilidad, resistencia y severidad de la COVID-19. Aún no está claro si son factores genéticos, sociales y / o una combinación de ambos los que contribuyen a las variaciones geográficas actuales de COVID-19. Se han iniciado trabajos a nivel internacional para estudiarlo<sup>4,5</sup>. Desde el inicio de la pandemia, se han analizado factores virales como las diversas variantes del SARS-Cov-2<sup>6</sup> y la carga viral, así como factores del hospedador, tales como diabetes y obesidad, factores genéticos y también, el grupo sanguíneo<sup>5</sup>.

La detección de la infección por SARS-Cov-2 se ha realizado, principalmente, mediante la prueba de PCR con transcripción reversa (RT-qPCR). Los resultados de tales pruebas se pueden informar como valores de ciclo umbral (Ct, del inglés, *cycle threshold*), que pueden proporcionar mediciones semicuantitativas o indirectas de la carga viral. En el caso del SARS-Cov-2, la cinética viral ha sido poco caracterizada y su asociación con la evolución de la enfermedad es controvertida. A pesar de ello, existen evidencias que sugieren que el período de incubación es de aproximadamente 5 días y que la carga viral máxima se produce en la fase inicial de la enfermedad, cerca del momento del inicio de los síntomas<sup>7</sup>. El tiempo que transcurre hasta la eliminación viral varía entre los estudios, pero la diseminación del virus puede persistir durante varias semanas después del inicio de los síntomas, incluso meses, en algunas personas<sup>8</sup>, y puede ser más corta en personas jóvenes y/o asintomáticas. En pacientes hospitalizados, algunos estudios sugieren una carga viral más alta en pacientes graves en comparación con pacientes leves<sup>9</sup>.

El papel de la genética del huésped en el impacto de la susceptibilidad y la gravedad de la COVID-19 no han sido estudiados en nuestra población. El coronavirus SARS-Cov-2 entra en las células a través de la unión de una proteína de su superficie, la proteína *Spike*, con el receptor ECA2 (enzima convertidora de angiotensina 2) de las células huésped<sup>10</sup>.

El gen que codifica a la ECA1 se localiza en el cromosoma 17 (17q23) y está compuesto por 26 exones y 25 intrones. El gen de la ECA1 presenta un polimorfismo de inserción/de-

lección (I/D, dbSNP rs4646994), el cual se debe a la presencia o no, en el intrón 16, de una secuencia Alu repetitiva que comprende 287 pares de bases<sup>11</sup>. La delección de este polimorfismo del gen ECA1 se ha asociado con una menor expresión de ECA2, el receptor de SARS-Cov-2, lo cual implicaría que aquellos pacientes con el genotipo DD presentarían menor susceptibilidad a la infección<sup>12</sup>.

En diversos trabajos, se ha descrito la relación entre este polimorfismo y la severidad en pacientes con COVID-19<sup>13-17</sup>. Existen ciertas discrepancias acerca de la relación entre la expresión de ECA2 y la susceptibilidad a la infección por SARS-Cov-2, como propone Saadat en su publicación<sup>18</sup>, motivo por el cual resulta necesario tener en cuenta distintos factores ambientales como la frecuencia alélica de cada población, el patrón geográfico de prevalencia y mortalidad, la economía y el número de testeos para dicha infección, etc., ya que es evidente que dichos factores pueden sesgar las conclusiones de varios de los trabajos publicados.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar si el polimorfismo rs4646994 del gen ECA1 está vinculado a la susceptibilidad a SARS-Cov-2 y si el valor de Ct influye en el desarrollo de síntomas.

## Materiales y métodos

### Población de estudio

Se estudiaron individuos no relacionados en los cuales la presencia o ausencia del virus SARS-Cov-2 fue determinada en muestras de hisopado nasofaríngeo mediante *kit* comercial de RT-qPCR. Los individuos completaron una planilla epidemiológica y, además, firmaron un consentimiento informado para la participación en el estudio, el cual cuenta con aprobación de un comité de ética local (Comité de Ética en Investigación, Instituto de Investigaciones Clínicas). Se analizaron individuos no infectados que habían tenido un contacto estrecho con un caso confirmado dentro de los tres días anteriores a la toma de muestra, portadores asintomáticos e individuos sintomáticos que asistieron al laboratorio entre septiembre y diciembre de 2020. Los síntomas registrados fueron cefalea, odinofagia, tos, mialgia, diarrea, artralgia, anorexia, disnea, malestar general, fiebre y anosmia.

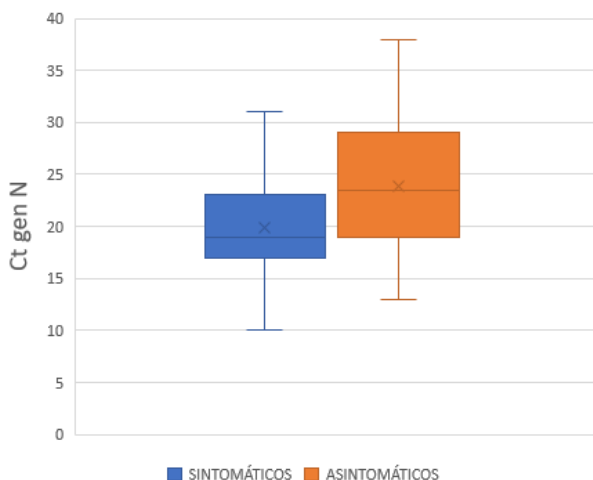
### Toma de muestra

La muestra utilizada para la detección de SARS-Cov-2 y el estudio del polimorfismo I/D (rs4646994) del gen ECA1 por el método de PCR fue el hisopado nasofaríngeo. La toma de muestra estuvo a cargo de personal de salud capacitado para este procedimiento. Una vez realizado el hisopado nasofaríngeo, se colocó el hisopo en un tubo cónico con solución fisiológica y la muestra se conservó refrigerada en heladera a 4°C, no más de 72 h, hasta su procesamiento.

### Extracción de ácidos nucleicos

La extracción de ARN y ADN de las muestras respiratorias se llevó a cabo con el *Viral Nucleic Acid Extraction Kit (Genaid, New Taipei, Taiwan)*, siguiendo las instrucciones del

**Figura 1.** Valores de Ct del Gen N en individuos sintomáticos y asintomáticos.



fabricante. Las extracciones se llevaron a cabo en cabina de seguridad biológica tipo II.

**Estudio molecular de la presencia de ARN de SARS-CoV-2**

La detección del SARS-Cov-2 se realizó con el kit 2019-nCoV CDC EUA, (IDT, Integrated DNA Technologies). Se utilizó la premezcla *GoTaq(R) Probe 1-Step RT-qPCR System* –Promega - Bosphore® *novel coronavirus (2019-NCOV) Detection kit V2*. Como control positivo de las reacciones, se utilizó *2019-nCoV-N-Positive Control* (IDT). El kit utiliza dos juegos de *primers* y sondas para amplificar las regiones N1 y N2 del gende la nucleocápside viral (gen N). Un par de *primers* y sondas adicionales se utiliza para detectar el gen humano Rnase P como control del proceso de extracción de ARN de las muestras biológicas (control interno). Las reacciones de RT-qPCR se llevaron a cabo en un equipo Analytik Jena qTOWER<sup>3</sup>Q, siguiendo el siguiente programa: 15 minutos a 45°C, 2 minutos a 95°C con 45 ciclos de 3 segundos a 95°C y 30 segundos a 55°C. La medición de fluorescencia se realizó en el canal FAM.

**Estudio del polimorfismo I/D del gen ECA1**

El análisis del polimorfismo genético I/D (rs4646994) en el intrón 16 del gen ECA1 se realizó de acuerdo con el protocolo descrito por Rigat y colaboradores<sup>11</sup>. Se realizaron amplificaciones con los oligonucleótidos ACEfw (CTGGAGACCACTCCCATCCTTCT) y ACErv (GATGTGGCCATCACATTCGTCA-GAT) con la premezcla Mytaq (Biosystems); los productos de amplificación fueron observados en gel de agarosa 1,5 %. Los pacientes homocigotas D/D presentan una banda de 190pb, los homocigotas I/I presentan una banda de 490 pb. En el caso de los heterocigotas I/D, se observan dos bandas: una de 190pb y otra de 490pb.

**Análisis estadístico**

Con base en los resultados obtenidos mediante la geno-

**Tabla I.** Media de valores de Ct, desvío standard (SD) y valor P (WMW) para los diferentes síntomas analizados.

Síntoma		Media Ct	SD	Valor P
Diarrea	Presente	20,17	4,58	0,23
	Ausente	21,77	5,68	
Malestar general	Presente	19,32	4,44	<0,0001
	Ausente	22,84	5,79	
Artralgia	Presente	19,46	3,75	0,09
	Ausente	21,84	5,72	
Fiebre	Presente	18,61	3,86	<0,0001
	Ausente	22,87	5,76	
Cefalea	Presente	19,99	4,77	0,0042
	Ausente	22,15	5,78	
Odinofagia	Presente	20,41	5,47	0,0455
	Ausente	21,91	5,63	
Tos	Presente	19,41	4,58	<0,0001
	Ausente	22,54	5,75	
Mialgia	Presente	19,21	4,17	0,0030
	Ausente	21,98	5,71	
Anorexia	Presente	20	3,97	0,29
	Ausente	21,76	5,69	
Disnea	Presente	20,18	4,17	0,45
	Ausente	21,71	5,66	
Anosmia	Presente	22,77	4	0,03
	Ausente	21,51	5,79	

► \*Ct= valor umbral del ciclo (cycle threshold value) \*\*SD= desvío estándar \*\*\* Valor p= probabilidad de que un valor estadístico calculado sea posible, dada una hipótesis nula cierta.

tipificación de los individuos, se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo en estudio para los tres grupos de muestras. En los tres grupos de individuos, se evaluó su apartamiento del equilibrio de Hardy-Weinberg bajo el test de Chi-cuadrado (X<sup>2</sup>). Para evaluar el valor de Ct y la presencia de los diferentes signos y síntomas, se utilizó el test de Mann–Whitney–Wilcoxon (WMW). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de significancia (α) = 0,05.

**Resultados**

Se estudiaron 658 individuos no relacionados: 325 individuos no infectados que habían tenido contacto estrecho con un caso confirmado dentro de los tres días anteriores a la toma de muestra, 132 portadores asintomáticos y 201 individuos sintomáticos.

El promedio de edad de la población estudiada fue de 41.76 años (rango 1-95, DS 17,81), el 51 % era masculina). No se encontró relación entre la edad y el sexo con la posi-

**Tabla II.** Frecuencias alélicas y genotípicas en los tres grupos estudiados.

Grupo	Frecuencia genotípica			Frecuencia alélica	
	DD	DI	II	D	I
Negativos para SARS-Cov-2	0,26	0,55	0,19	0,51	0,49
Positivos sintomáticos	0,26	0,55	0,19	0,53	0,47
Positivos asintomáticos	0,28	0,54	0,18	0,54	0,46

vidad para SARS-Cov-2, con la presencia de síntomas ni con el valor de Ct. Se encontraron diferencias significativas entre la presencia de síntomas y el valor de Ct (asintomáticos: Ct = 23,84 vs. sintomáticos: Ct = 20,22, WMW,  $p < 0,001$ ), y los individuos con síntomas mostraron un valor de Ct menor (Figura 1).

No se encontraron diferencias entre la presencia de diarrea, artralgia, anorexia, disnea y el valor de Ct. Se encontraron diferencias significativas entre la presencia de malestar general, fiebre, cefalea, odinofagia, tos, mialgia, anosmia y el valor de Ct, ( $p < 0,05$ , Tabla I). En todos los casos, excepto para anosmia, los pacientes con síntomas presentaban un valor de Ct menor (mayor carga viral) respecto de los que no los presentaban.

#### Estudio del polimorfismo I/D del gen ECA1

Se obtuvieron los perfiles genéticos de las 658 muestras, que permitieron calcular las frecuencias alélicas y genotípicas y, por ende, lograr estimar la distribución de frecuencias de estos polimorfismos en cada grupo de estudio. La frecuencia del alelo D en los individuos no infectados fue de 0,51, mientras que en el grupo de portadores asintomáticos de SARS-Cov-2 fue de 0,54 y de 0,53, en los sintomáticos (Tabla II). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos ( $p = 0,35$ ) ni tampoco, al comparar los individuos con PCR detectable (sintomáticos y asintomáticos) con los no detectables ( $p = 0,98$ ).

Asimismo, no se encontró una relación estadísticamente significativa del genotipo del polimorfismo genético I/D (rs4646994) del gen ECA1 con el sexo ni con el valor de Ct ni con la aparición de ninguno de los síntomas evaluados. Todos los grupos de datos están en equilibrio de Hardy-Weinberg.

#### Discusión

Nuestros resultados sugieren que el polimorfismo rs4646994 no estaría vinculado a la susceptibilidad a la infección por SARS-Cov-2 en nuestra población y que la carga viral analizada como valor de Ct influye en la aparición de algunos síntomas.

En el presente trabajo, encontramos que los pacientes con síntomas presentaban valores de carga viral medida en

valor de Ct, mayores que los de aquellos pacientes sin síntomas. Existen varios trabajos anteriores en los cuales no se ha encontrado relación entre el valor de Ct con el desarrollo de síntomas<sup>19-21</sup>. Por el contrario, en el caso de Salvatore y colaboradores, ellos encontraron, utilizando el mismo *kit* de RT-qPCR que el presente trabajo, una relación entre el valor de Ct y el desarrollo de síntomas respiratorios<sup>22</sup>. En particular, hemos encontrado relación entre el valor de Ct y el desarrollo de los siguientes síntomas: malestar general, fiebre, cefalea, odinofagia, tos, mialgia y anosmia.

Los pacientes con el síntoma de anosmia presentaron un valor de Ct mayor que aquellos que no la presentaban, lo cual podría estar relacionado con que este síntoma tiene una aparición más tardía en la infección. En trabajos anteriores, no encontraron relación entre el valor de Ct y la severidad o el tiempo de recuperación de la anosmia<sup>23</sup>.

El análisis de este estudio no mostró una relación entre el valor de Ct y las diferentes edades. En la bibliografía existen evidencias contradictorias al respecto, aunque se sugiere que el valor de Ct disminuye con la edad<sup>24,25</sup>.

El presente estudio cuenta con varias limitaciones. Los participantes fueron categorizados según sus síntomas en el momento de la toma de muestra para la prueba de RT-qPCR, lo cual no refleja la trayectoria completa de los síntomas del individuo. Adicionalmente, se incorporaron a este estudio pacientes ambulatorios con cuadros leves, por lo tanto, no se pudieron realizar correlaciones de los valores de Ct o del genotipo del polimorfismo I/D del gen ECA1 con el desarrollo de cuadros graves de COVID-19.

No se encontró una relación estadísticamente significativa entre el genotipo del polimorfismo I/D del gen ECA1 con el sexo, con el valor de Ct ni con la aparición de ninguno de los síntomas evaluados. Tampoco se hallaron diferencias en su frecuencia alélica en los tres grupos estudiados, lo cual sugiere que este polimorfismo no estaría vinculado a la susceptibilidad al SARS-Cov-2 en nuestra población. Se han descrito otros genes, así como otros polimorfismos en los genes ECA, que podrían estar involucrados en la respuesta a la infección<sup>26,27</sup>.

Este estudio aportará datos de utilidad para investigaciones que requieran el uso del polimorfismo I/D del gen ECA1 como marcador genético vinculado a la respuesta a la infec-

ción por SARS-Cov-2 en nuestra población. Probablemente, sería conveniente estudiarlo en pacientes con cuadros graves, ya que se ha encontrado que está relacionado con los mismos en diversas poblaciones<sup>28,13,14</sup>.

Asimismo, este trabajo brindó información sobre la influencia del valor de Ct con el desarrollo de algunos síntomas que no se habían descrito en nuestra población.

## Referencias bibliográficas

1. Chan JF-W, Yuan S, Kok K-H, Kelvin K, Hin C, Jin Y et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 2020; 395: 514–23.
2. Weekly epidemiological update on COVID-19 - Edition 80 [Consultado 2022 27 Feb]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---22-february-2022>.
3. Coronavirus disease [COVID-19] [Consultado 2022 27 Feb]. Disponible en: [https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_3)
4. The COVID-19 Host Genetics Initiative. The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-Cov-2 virus pandemic. *Eur J Hum Genet* 2020;28:715–718.
5. Fakhroo AD, Al Thani AA, Yassine HM. Markers Associated with COVID-19 Susceptibility, Resistance, and Severity. *Viruses* 2021; 13: 45.
6. Tracking SARS-CoV-2 variants [Consultado 2022 27 Feb]. Disponible en <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
7. He X, Lau E H Y, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat. Med.*2020; 26: 672–675.
8. Cevik M, Tate M, Ollie LO, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe* 2 2021; e13–e22.
9. Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang TX, Le A, Liu JM et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect.* 2020; 20: 656–657.
10. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn S C, Di Napoli Features R. Evaluation and Treatment Coronavirus [COVID-19]. 2021 StatPearls [Consultado 2022 27 Feb]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
11. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest.* 1990; 86:1343.
12. Li M, Schifanella L, Larsen PA. Alu retrotransposons and COVID-19 susceptibility and morbidity. *Human Genomics*, 2021;15(2):1-11.
13. Aladag E, Tas Z, Ozdemir B S, Akbaba T H, Meltem Akpınar M G, Goker H et al. N. "Human Ace D/I Polymorphism Could Affect the Clinicobiological Course of COVID-19". *JRAAS*, 2021; 5509280: 1-7.
14. Yamamoto N, Ariumi Y, Nishida N, Yamamoto R, Bauer G, Gojobori T et al. SARS-Cov-2 infections and COVID-19 mortalities strongly correlate with ACE1 I/D genotype *Gene*. 2020;758:144944.
15. Delanghe J R, Speeckaert M M, De Buyzere M L. COVID-19 infections are also affected by human ACE1 D/I polymorphism. *Clin Chem Lab Med.* 2020 ;58(7):1125-1126.
16. Pati A, Manhto HS, Padhi S, Panda, A K. ACE deletion allele is associated with susceptibility to SARS-Cov-2 infection and mortality rate: An epidemiological study in the Asian population. *Clin Chim Acta.* 2020;510:455-458.
17. Gómez J, Albaiceta G M, García-Clemente M, López-Larrea C, Amado-Rodríguez L, Lopez-Alonso I et al. Angiotensin-converting enzymes (ACE, ACE2) gene variants and COVID-19 outcome. *Gene*. 2020; 762: 145102.
18. Saadat M. No significant correlation between ACE Ins/Del genetic polymorphism and COVID-19 infection. *CCLM* 2020; 58(7):1127-1128.
19. Zuin M, Gentili V, Cervellati C, Rizzo, Zuliani G. Viral Load Difference between Symptomatic and Asymptomatic COVID-19 Patients: Systematic Review and Meta-Analysis. *Infect. Dis. Rep.* 2021; 13:645–653.
20. Arons M M, Hatfield K M, Reddy S C. Presymptomatic SARS-Cov-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *N Engl J Med.* 2020; 382:2081-2090.
21. Kimball A, Hatfield K M, Arons M, Allison J, Joanne T, Kevin S et al. Asymptomatic and presymptomatic SARS-Cov-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility - King County, Washington. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020; 69(13):377-381.
22. Salvatore P P, Dawson P, Wadhwa A, Rabold E M, Buono S, Dietrich E A et al. Epidemiological Correlates of Polymerase Chain Reaction Cycle Threshold Values in the Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-Cov-2). *Clin Infect Dis.* 2021;72(11):e761-e767.
23. Cho R H W, To Z W H, Yeung Z W C, Tso E Y K, Fung K S C, Chau S K Y et al. COVID-19 Viral Load in the Severity of and Recovery from Olfactory and Gustatory Dysfunction. *Laryngoscope.* 2020;130(11):2680-2685.
24. Buchan B W J S, Grmehlin C G, Perez A, Faron M L, Munoz-Price L S, Ledebor N A. Distribution of SARS-Cov-2 PCR Cycle Threshold Values Provide Practical Insight Into Overall and Target-Specific Sensitivity Among Symptomatic Patients. *Am J Clin Pathol.* 2020;154(4):479-485.
25. Euser S, Aronson S, Manders I, Van Lelyveld S, Herpers B, Sinnige J, et al. SARS-Cov-2 viral-load distribution reveals that viral loads increase with age: a retrospective cross-sectional cohort study. *Int J Epidemiol.* 2021;50(6):1795-1803.
26. Lo Presti M, Beck D B, Duggal P, Cummings D A T, Solomon B D. The Role of Host Genetic Factors in Coronavirus Susceptibility: Review of Animal and Systematic Review of Human Literature. *AJHG.* 2020;107:381-402.
27. Schurr T G. Host genetic factors and susceptibility to SARS-Cov-2 infection *Am J Hum Biol.* 2020;32(5):e23497.
28. Ballone M S L. ACE polymorphisms and COVID-19-related mortality in Europe. *J Mol Med [Berl].* 2020;98(11):1505-1509.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Valor predictivo del sodio plasmático en pacientes internados con COVID-19

*Predictive value of plasma sodium in hospitalized patients with COVID-19*

Towstyka, Nadia Yasmín<sup>1\*</sup>; Palanek, María Laura<sup>1</sup>; Brethauer Alejandra<sup>1</sup>; Morvillo, Natalia<sup>1</sup>; Tarditti, Adrián<sup>1</sup>; Duarte, Ender<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Servicio de Laboratorio, Hospital de Alta Complejidad del Bicentenario Esteban Echeverría. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Servicio de Terapia, Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital de Alta Complejidad del Bicentenario Esteban Echeverría. Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Towstyka, Nadia Yasmín. Towstyka, Nadia Yasmín. Servicio de laboratorio, Hospital de Alta Complejidad del Bicentenario Esteban Echeverría. San Martín 504, Monte Grande, Esteban Echeverría, Buenos Aires, Argentina; laboratorihbicentenario@gmail.com

**Resumen** Introducción: La enzima convertidora de angiotensina II es el receptor que utiliza el virus SARS-CoV2 para ingresar a las células y su bloqueo puede afectar la regulación del balance hidroelectrolítico generando, entre otras alteraciones, hipernatremia. Objetivo: Puesto que el aumento de sodio fue reportado como un factor de mal pronóstico en internados con COVID-19, nos propusimos evaluar su valor predictivo en la evolución de pacientes internados en el Hospital de Alta Complejidad del Bicentenario Esteban Echeverría. Materiales y métodos: Utilizando la base de datos del laboratorio, se analizaron los niveles plasmáticos de sodio, de forma retrospectiva, en una cohorte de 160 pacientes durante el primer semestre del año 2021. Resultados: En pacientes fallecidos (N=98), se observa un aumento significativo del sodio plasmático medido a partir de las 48 h de internación ( $p < 0,01$ ), que no se observa en pacientes no fallecidos (N=62). Si se comparan los resultados de sodio plasmático al quinto día de internación, se observan diferencias significativas ( $p < 0,0001$ ) entre ambos grupos. Para cada rango etario, es mayor el porcentaje de óbitos, si se consideran los pacientes con hipernatremia respecto de los pacientes internados en general. El porcentaje de fallecidos se incrementa en función de la edad y el grado de hipernatremia. Conclusión: Considerando los elevados valores de sodio que se observaron durante los primeros días de internación en los pacientes fallecidos y el aumento de la mortalidad en función de la mayor edad del paciente y de valores más elevados de sodio plasmático, podemos concluir que la hipernatremia tiene un valor predictivo de mortalidad significativo en los pacientes internados por COVID-19.

**Palabras clave:** COVID-19, hipernatremia, valor predictivo, internados fallecidos.

**Abstract** Introduction: Angiotensin II converting enzyme is the receptor used by SARS-CoV2 to enter cells and its blockage can affect the regulation of fluid and electrolyte balance, generating several alterations, including hypernatremia. Objective: Since an increase in plasma sodium has been reported as a negative prognostic factor in hospitalized patients with COVID-19, we decided to evaluate its predictive value at the Hospital de alta complejidad del Bicentenario Esteban Echeverría, Buenos Aires, Argentina. Materials and methods: By using the laboratory database, plasma sodium levels were retrospectively analyzed in a cohort of 160 patients during the first semester of 2021. Results: Deceased patients (N=98) showed a significant increase in plasma sodium after 48 hours of hospitalization ( $p < 0.01$ ), which was not observed in non-deceased patients (N=62). When comparing the levels of plasma sodium on the fifth day of hospitalization, significant differences ( $p < 0.0001$ ) were observed between both groups. For each age range, the percentage of deaths in patients with hypernatremia was higher than that in the total hospitalized patients. The percentage of deaths increased according to the age and hypernatremia degree. Conclusion: The probability that patients die if they present high sodium values within the first days of hospitalization is high and increases with the age and degree of hypernatremia, demonstrating the high predictive value of this marker in deceased patients with COVID-19.

**Keywords:** COVID-19, Hypernatremia, predictive value, deceased patients.

## Introducción

El sistema renina - angiotensina - aldosterona ha sido un importante foco de investigación en el estudio de la fisiopatología de la infección por el virus SARS-CoV2, puesto que la enzima convertidora de angiotensina II (ACE2) es el receptor que utiliza el virus para ingresar a las células<sup>1,2</sup>.

El virus SARS-CoV-2 infecta a todos los grupos de edad, sin embargo, se demostró que los hombres pueden presentar formas más agresivas de la enfermedad, posiblemente, como consecuencia de que tienen concentraciones de ACE2 mayores en circulación<sup>2</sup>, lo que demuestra la importancia del bloqueo de esta enzima en la fisiopatología de la COVID-19.

Distintos autores concluyeron que la hipernatremia es un factor de riesgo de mortalidad independiente en pacientes internados en unidades de cuidados críticos<sup>3</sup>.

Posteriormente, otros autores demostraron que el aumento de sodio plasmático es el trastorno electrolítico más reportado como factor de mal pronóstico en pacientes hospitalizados con COVID-19<sup>1,4-6</sup> y que estos hallazgos son compatibles con una mayor reabsorción de sodio en los riñones, posiblemente causada por el incremento de la actividad de la angiotensina II secundario al bloqueo de ACE2<sup>5</sup>.

Por lo expuesto anteriormente, nos propusimos evaluar el valor predictivo del sodio plasmático en la evolución de pacientes internados con COVID-19 en el Hospital de Alta Complejidad del Bicentenario de Esteban Echeverría.

## Materiales y métodos

Se analizó, de forma retrospectiva, una cohorte de 160 pacientes internados con COVID-19 durante el primer semestre del año 2021: el 65 % de los pacientes eran de sexo masculino y el 35 % femenino.

Se analizaron los niveles plasmáticos de sodio durante los primeros diez días de internación. La cuantificación de electrolitos se realizó utilizando métodos potenciométricos directos. Estos resultados fueron recolectados de la base de datos de laboratorio, *SISGH* (Sistema informático de gestión hospitalaria), y los datos vinculados con la evolución clínica de los pacientes, de las historias clínicas correspondientes.

Para el análisis estadístico, se utilizó la prueba Kruskal - Wallis con posttest de Dunn. Un valor  $p$  menor que 0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

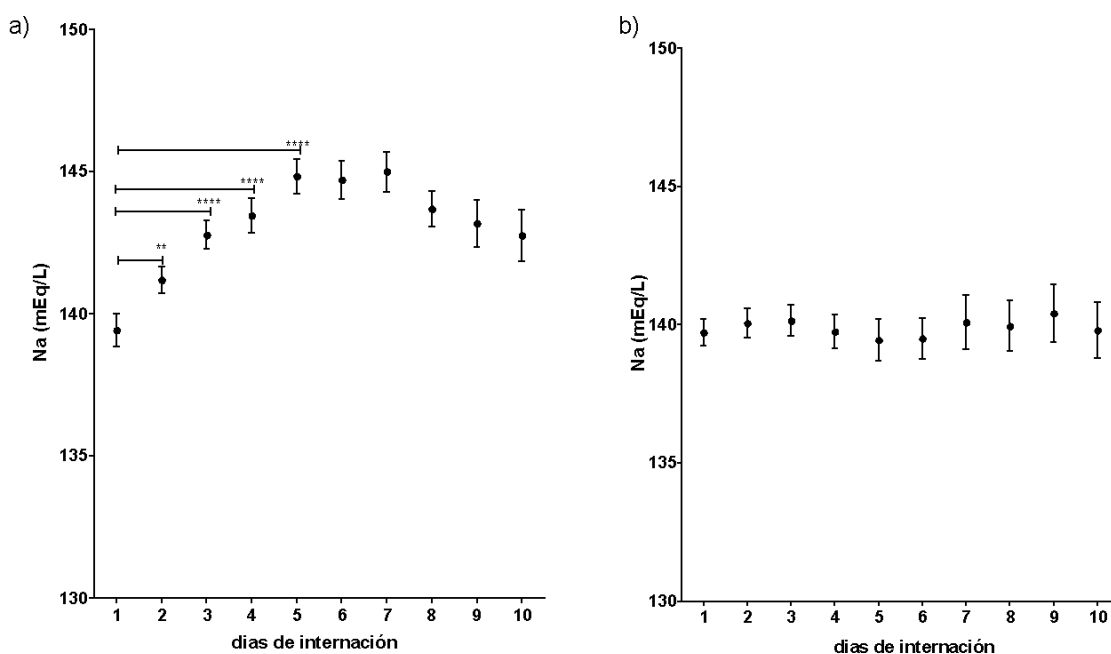
## Resultados

En pacientes internados con COVID-19, fallecidos (N=98), se observa un aumento significativo del sodio plasmático medido a partir de las 48 h de internación ( $p<0,01$ ). No se observan diferencias significativas en el caso de los pacientes no fallecidos (N=62) (Figura 1).

Si se comparan los resultados de sodio plasmático medidos al quinto día de internación, se observan diferencias significativas ( $p<0,0001$ ) entre pacientes fallecidos y no fallecidos (Figura 2).

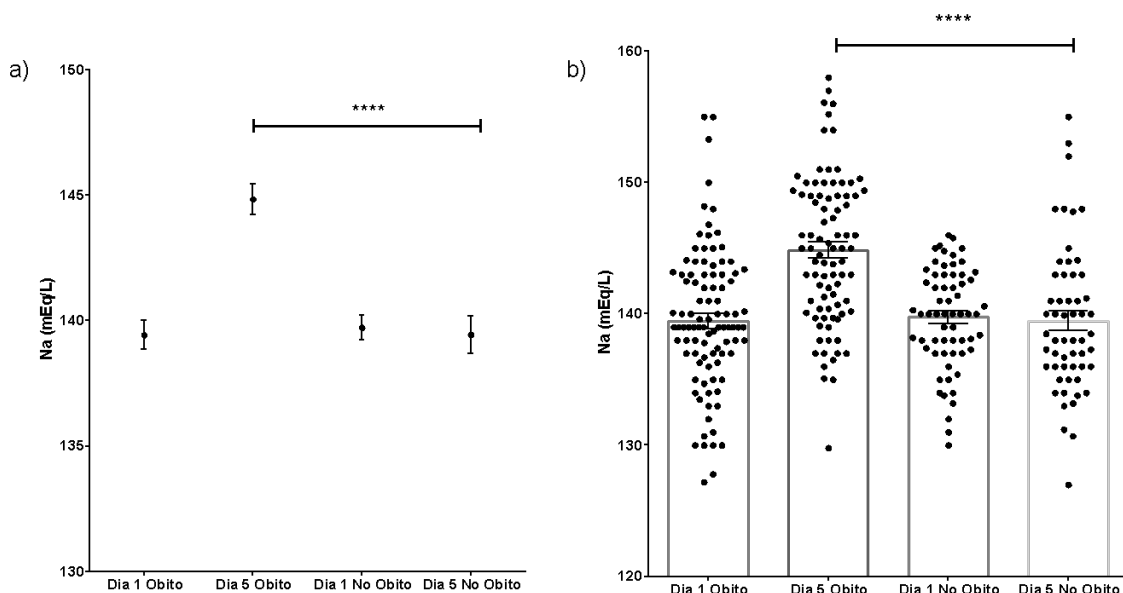
La mortalidad global en pacientes internados con COVID-19 fue del 61%. Para cada rango etario, es mayor el por-

**Figura 1.** Valores de sodio plasmático en función de los días de internación.



► Se evalúan los resultados de pacientes internados con COVID-19 a) fallecidos (N=98) y b) no fallecidos (N=62), durante 10 días de internación. Se encuentran representados los valores de sodio (mEq/L) como: media  $\pm$  error estándar de la media, en función de los días de internación. \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ ; \*\*\*\*  $p<0,0001$ . No se observan diferencias significativas en el caso de los no fallecidos. Prueba de Kruskal - Wallis con posttest de Dunn.

**Figura 2.** Valores de sodio plasmático medidos en el primer y quinto día de internación.



► Se comparan los resultados de pacientes internados con COVID-19 fallecidos (N=98) y no fallecidos (N=62), considerando el primer y quinto día de internación. (a) Se encuentran representados los valores de sodio (mEq/L) como: media ± error estándar de la media. (b) Se encuentran representados todos los valores de sodio plasmático medidos. \*\*\*\* p<0,0001. Prueba de Kruskal - Wallis con postest de Dunn.

centaje de óbitos, si se consideran los pacientes con hipernatremia respecto de los pacientes internados, en general (Figura 3).

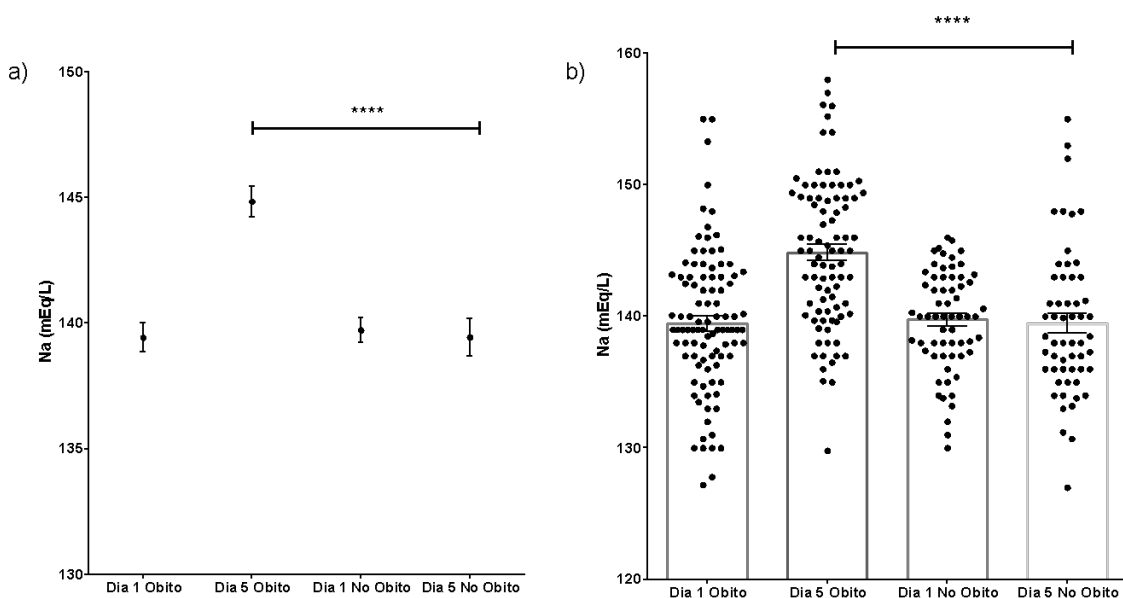
El porcentaje de fallecidos con COVID-19 se incrementa en función de la edad y el grado de hipernatremia (Figura 4). El valor predictivo del sodio es del 100 %, si consideramos una hipernatremia de 156 a 170 mEq/L para cualquier ran-

go etario; lo mismo ocurre si consideramos la franja de 70 a 89 años, independientemente del rango de valores de sodio plasmático elevado.

**Discusión**

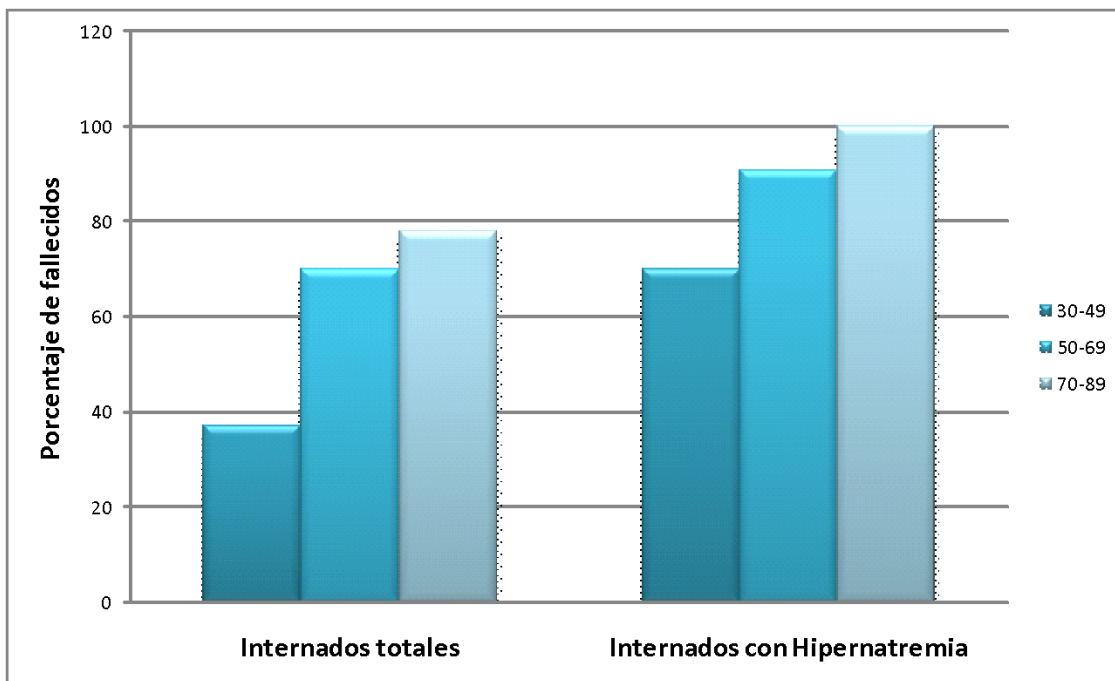
Considerando los elevados valores de sodio que se observaron durante los primeros días de internación en los pa-

**Figura 2.** Valores de sodio plasmático medidos en el primer y quinto día de internación.



► Se comparan los resultados de pacientes internados con COVID-19 fallecidos (N=98) y no fallecidos (N=62), considerando el primer y quinto día de internación. (a) Se encuentran representados los valores de sodio (mEq/L) como: media ± error estándar de la media. (b) Se encuentran representados todos los valores de sodio plasmático medidos. \*\*\*\* p<0,0001. Prueba de Kruskal - Wallis con postest de Dunn.

**Figura 3.** Porcentaje de fallecidos totales y fallecidos con hipernatremia según el rango etario.



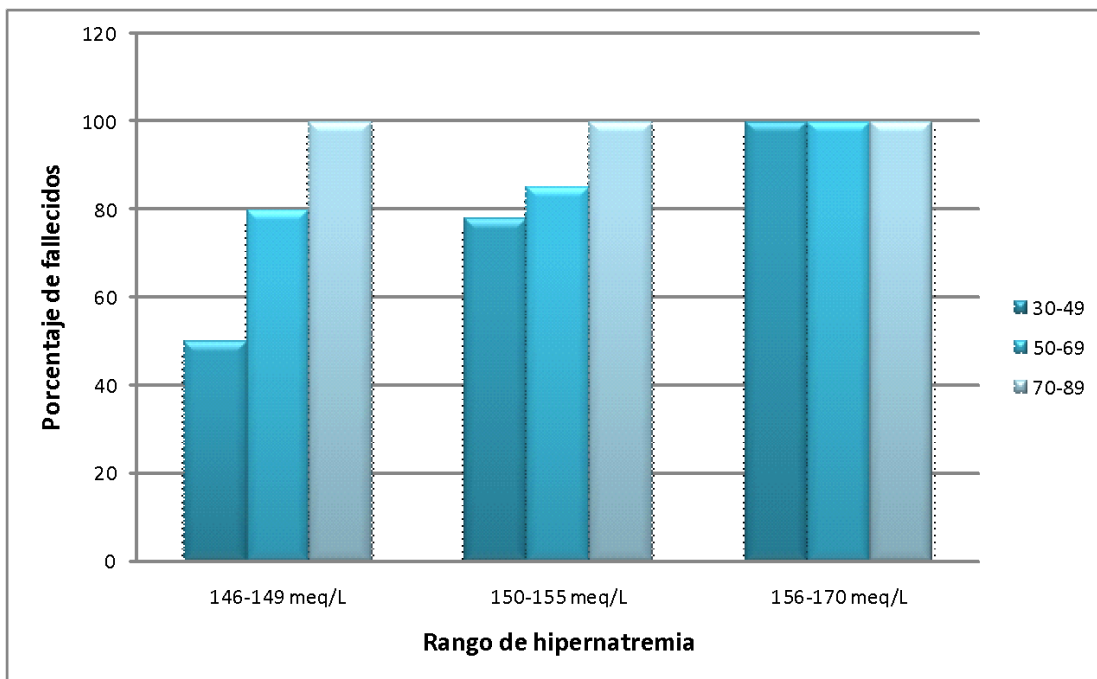
► Se compara el porcentaje de pacientes fallecidos respecto del total de pacientes internados con COVID-19 (N=160) y respecto del total con hipernatremia (N=67) dentro de los primeros días de internación, en tres rangos etarios: 30 a 49 años, 50 a 69 años y 70 a 89 años.

cientos fallecidos y el aumento de la mortalidad en función de la mayor edad del paciente y de valores más elevados de sodio plasmático, podemos concluir que la hipernatremia tiene un valor predictivo de mortalidad significativo en los

pacientes internados por COVID-19.

Por medio de este trabajo pudimos confirmar, en nuestra población y con nuestras condiciones, el valor pronóstico negativo de la hipernatremia, como fuera reportado en otros

**Figura 4.** Porcentaje de fallecidos según rango etario y grado de hipernatremia.



► Se compara el porcentaje de pacientes fallecidos con COVID-19 en tres rangos de edad: 30 a 49 años, 50 a 69 años y 70 a 89 años y tres rangos de hipernatremia: 146-149 mEq/L, 150-155 mEq/L, 156-170 mEq/L.

trabajos. Finalmente, consideramos que sería importante evaluar posibles factores predisponentes de hipernatremia en estos pacientes y analizar el valor predictivo del analito en comparación con otras patologías.

### Agradecimientos

Agradecemos al Hospital de Alta Complejidad del Bicentenario Esteban Echeverría y al personal de salud, que ha mostrado una gran vocación de servicio durante la pandemia de COVID-19, por el inmenso valor profesional de cada uno de los eslabones que componen este grupo de trabajadores de la salud y su colaboración con este y futuros trabajos de investigación que contribuyan a la innovación y crecimiento científico de esta institución, así como al avance de los conocimientos en salud y el bienestar de la población en general.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer ningún interés comercial o asociativo que presente un conflicto de intereses con el trabajo presentado.

### Referencias bibliográficas

1. Sjöström A, Rysz S, Sjöström H, Höybye C. Hypernatremia is common in patients with severe COVID-19 and indicates a poor prognosis. [preprint]. 2020. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-81965/v1>.
2. Sama IE, Ravera A, Santema BT, van Goor H, Ter Maaten JM, Cleland JGF et al. Circulating plasma concentrations of angiotensin-converting enzyme 2 in men and women with heart failure and effects of renin-angiotensin-aldosterone inhibitors. *Eur Heart J*. 2020; 41:1810–1817.
3. Lindner G, Funk GC, Schwarz C, Kneidinger N, Kaider A, Schneeweiss B, Kramer L et al. Hypernatremia in the critically ill is an independent risk factor for mortality. *Am J Kidney Dis*. 2007;50(6):952-957.
4. Wolf J, Possebon Berlesí F, Crestani dos Santos T, Barreto Glaeser A, Lunge V, Gasparetto Maccari J. et al. Hypernatremia increases mortality in patients admitted by COVID-19: A Retrospective longitudinal study with 1000 patients. [preprint]. 2022. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-1361819/v1>.
5. Zimmer MA, Zink AK, Weißer CW, Vogt U, Michelsen A, Priebe HJ et al. Hypernatremia-A Manifestation of COVID-19: A Case Series. *A A Pract*. 2020; 14(9):e01295.
6. Tzoulis P, Waung JA, Bagkeris E, Hussein Z, Biddanda A, Cousins J et al. Dysnatremia is a Predictor for Morbidity and Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021; 13;106(6):1637-1648.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Método rápido y directo para detección de variantes delta y ómicron BA.1 por RT-PCR en tiempo real

*Fast and direct method for the detection of the SARS-CoV-2 Delta and Omicron BA.1 variants by real-time RT-PCR*

Chialva, Constanza Soledad<sup>1\*</sup>; Galdi, Mónica Ana María<sup>1</sup>; Buscalia, María Laura<sup>1</sup>, Quiroz, Héctor Magno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biocientífica S.A. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Constanza Soledad Chialva, Biocientífica S.A., Iturri 232, CABA; chialva@biocientifica.com.ar

**Resumen** Introducción: La mayoría de las pruebas de RT-PCR utilizadas por los laboratorios comerciales y de salud pública detectan si una persona porta el virus SARS-CoV-2, pero no pueden determinar de qué variante se trata. Debido a esto, puede resultar de interés contar con pruebas que faciliten la identificación de una de las dos variantes de preocupación, con mayor circulación en la actualidad: delta y ómicron. Objetivos: Desarrollar una prueba comercial, de uso exclusivo en investigación, para la detección de las variantes delta y ómicron BA.1. Materiales y métodos: Se seleccionaron cebadores y sondas para detectar una región única y específica, con mutaciones del gen que codifica para la proteína *Spike* en las variantes delta y ómicron BA.1, y su versión sin mutación. Se diseñó un producto que contiene todos los componentes necesarios para detectar y amplificar ARN viral mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real. Se llevaron a cabo las validaciones analíticas, empleando material sintético de cada variante, y las validaciones clínicas, usando un panel de 110 muestras positivas para SARS-CoV-2, previamente secuenciadas para clasificación de sus variantes. Resultados: Se desarrolló y validó un método rápido, directo y accesible para la detección de las variantes delta y ómicron BA.1 mediante RT-PCR en tiempo real, con un límite de detección menor que 10 cp/μL y una alta sensibilidad y especificidad (100%). Conclusiones: Las pruebas basadas en RT-PCR en tiempo real se pueden usar para monitorear rápidamente las variantes de preocupación de SARS-CoV-2 en países de recursos limitados, pero requieren actualizaciones a medida que surgen nuevas variantes.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2, COVID-19, RT-PCR, variantes.

**Abstract** Introduction: Most of the RT-PCR tests used by commercial and public health laboratories detect if a person carries the SARS-CoV-2 virus but cannot determine the variant. Thus, it may be of interest to have tests that facilitate the identification of one of the two main variants of concern with the highest circulation today: Delta and Omicron. Objectives: The aim of this study was to develop a commercial test, for research use only, for the detection of the Delta and Omicron BA.1 variants. Materials and methods: Primers and probes were selected to detect a unique and specific region with mutations of the gene encoding the *Spike* protein in the Delta and Omicron BA.1 variants, and its version without mutation. A product containing all the necessary components was designed to detect and amplify viral RNA using the real-time RT-PCR technique. Analytical validations were performed with synthetic material of each variant and clinical validations with a panel of 110 samples positive for SARS-CoV-2, previously sequenced for classification of its variants. Results: A fast, direct, and accessible method was developed and validated for the detection of the Delta and Omicron BA.1 variants by real-time RT-PCR, with a detection limit of less than 10 cp/μL and high sensitivity and specificity (100%). Conclusions: Real-time RT-PCR-based tests can be used to rapidly monitor SARS-CoV-2 variants of concern in resource-limited countries, although they require updates as new variants emerge.

**Key words:** SARS-CoV-2, COVID-19, RT-PCR, variants.

## Introducción

La mayoría de las pruebas de RT-PCR utilizadas por los laboratorios comerciales y de salud pública detectan si una persona porta el virus SARS-CoV-2, pero no pueden determinar de qué variante se trata. Para llevar a cabo la identificación de variantes, es necesario recurrir a un ensayo adicional para el diagnóstico en vigilancia epidemiológica. Por esto, una vez determinada la presencia del virus en la muestra, puede resultar de interés la identificación de una de las dos variantes de preocupación (VOC), con mayor circulación en la actualidad: delta y ómicron, no solo por su peligrosidad para el paciente, sino también por la alta transmisibilidad en la comunidad, lo que constituye uno de los mayores problemas para controlar los brotes de COVID-19<sup>1,3</sup>.

Actualmente, la técnica *gold standard* para la identificación de variantes de SARS-CoV-2 consiste en la secuenciación de genoma completo junto a la secuenciación de próxima generación (NGS), sin embargo, estas técnicas son muy costosas, y los resultados se obtienen a partir de 3-5 días en laboratorios de alta complejidad y poco accesibles a la comunidad; asimismo, estas tecnologías presentan dificultades, si se consideran la instrumentación específica, recursos y habilidades de análisis de datos<sup>4</sup>.

Por otro lado, la técnica basada en RT-PCR en tiempo real puede proveer resultados rápidos en la identificación de VOC y/o variantes de interés (VOI), al tratarse de un método directo, en el mismo formato de RT-PCR en tiempo real que las pruebas usadas para el diagnóstico clínico, de fácil interpretación y que puede ser realizado por el mismo laboratorio que hizo el diagnóstico inicialmente<sup>5-7</sup>.

En este trabajo, reportamos el desarrollo de una prueba comercial y de uso exclusivo en investigación (RUO) para la detección rápida, directa y accesible de las variantes de circulación comunitaria en Argentina, delta [linaje B.1.617.2] y ómicron [linaje B.1.1.529, sublinaje BA.1]<sup>8</sup>. Esta prueba se diferencia de otros productos europeos, asiáticos o de Estados Unidos que dominan el mercado<sup>9,10</sup>, porque estos están diseñados para detectar variantes frecuentes en esos países, pero que son de escasa o nula circulación en Argentina. Los kits desarrollados por la empresa responden a la identificación de las variantes de circulación actual, según los informes epidemiológicos nacionales, y utilizan para la validación muestras de pacientes residentes en el país. De este modo, los resultados de las pruebas permiten la asignación provisional de casos como posibles VOC y también, comprender rápidamente la dinámica de contagios que ocurre en la población local.

## Materiales y métodos

Se seleccionaron cebadores y sondas para detectar una región única y específica, con mutaciones del gen que codifica para la proteína *Spike* (S) en las variantes delta (clados 21A, 21I, 21J) y ómicron BA.1 (clado 21K)<sup>11</sup> y en su versión sin mutación, de acuerdo con el procedimiento *in silico* que se describe a continuación. Se crearon alineamientos múltiples de secuencias mediante *Clustal Omega 2.0.12*<sup>12</sup>, utilizando da-

tos de secuenciación del genoma de referencia de SARS-CoV-2 [GenBank, número de acceso NC\_045512.2] y de cada una de las variantes con relevancia en la región geográfica: alpha, gamma, delta, lambda y ómicron (N=100)<sup>13</sup>. Se verificó la presencia de las mutaciones reportadas para delta y ómicron BA.1 que no estuvieran presentes en las secuencias de las otras variantes. Luego, se diseñaron diversos modelos de cebadores y sondas que permitieran amplificar específica e inequívocamente dichas regiones, empleando la herramienta *Primer-BLAST* disponible en la página web del Center for Biotechnology Information [NCBI] y el programa *Oligo Explorer 1.4* [Gene Link<sup>TM</sup>]. Para evaluar el correcto alineamiento de los cebadores y sondas con el genoma de interés, se utilizó la herramienta *online* para el análisis de secuencias *MultAlin*<sup>14</sup>. El análisis de las características de los cebadores y sondas como formación de dímeros, temperatura de fusión o *melting* y el contenido de GC fue llevado a cabo con el programa *Oligo Analyzer 1.0.2* [Gene Link<sup>TM</sup>]. La especificidad teórica del sistema se investigó usando *BLAST* contra la base de datos de nucleótidos del NCBI. Para la formulación de los demás componentes de la prueba, se utilizó el diseño para el producto Schep SARS-CoV-2 RT-PCR Duo, que fuera anteriormente desarrollado, aprobado por ANMAT y comercializado por Biocientífica S.A. [inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (R.P.P.T.M.) bajo el número PM 78-222].

Para el desarrollo y la validación analítica del desempeño de la prueba y para proveer al usuario como control positivo (CP) específico incluido en la prueba, se utilizaron fragmentos génicos [gBlocks<sup>™</sup>, IDT] de ADN de doble cadena de 200 - 250 pb, diseñados de acuerdo con la región genómica a detectar tanto para la variante delta como para la ómicron BA.1. Se validó analíticamente el desempeño respecto de muestras sin mutación o *wild type*, utilizando material de referencia que fuera provisto por ATCC- ítem NR-52285 [ARN genómico de SARS-CoV-2, aislamiento USA-WA1/2020, GenBank, número de acceso MN985325]. Todos los ensayos fueron realizados en un equipo Rotor Gene Q [QIAGEN GmbH; Hilden, Alemania], siguiendo el programa térmico previamente establecido para el producto Schep SARS-CoV-2 RT-PCR Duo [Biocientífica S.A.]. Un resultado positivo para la presencia de material genético del blanco a detectar se indica mediante la presencia de una curva de amplificación de PCR en tiempo real y un valor de umbral de ciclo asociado [*Cycle threshold*, Ct]. Los resultados se analizaron por medio del programa de visualización *Rotor-Gene Q Pure Detection 2.3.1*, que interpreta automáticamente la cinética de la prueba para proporcionar un resultado cualitativo para la presencia o ausencia de la mutación del virus SARS-CoV-2.

Para llevar a cabo la validación clínica de detección de variantes de SARS-CoV-2, se utilizó un panel conformado por 110 muestras de ARN extraído a partir de hisopados nasofaríngeos, recolectadas durante el período 2020-2022 y cedidas por el Laboratorio de Virología / Secuenciación del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Todas estas muestras informadas como positivas para el virus SARS-CoV-2 fueron clasificadas de acuerdo

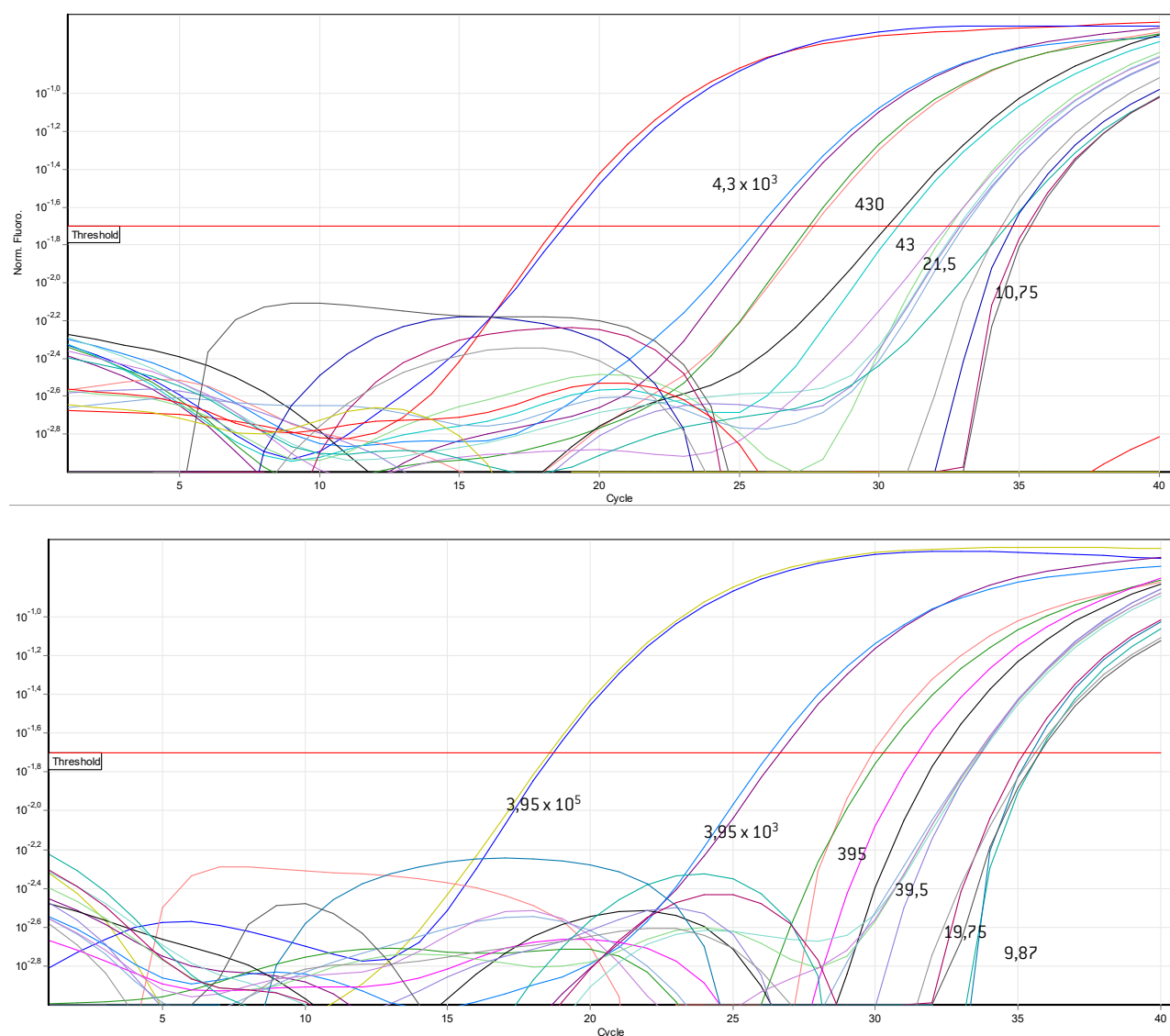
con la presencia de mutaciones detectadas por secuenciación parcial del gen S o del genoma completo e incluían 15 muestras correspondientes a la variante alpha [B.1.1.7], 21 a la variante gamma [P.1], 25 a la variante delta [B.1.617.2], 19 a la variante lambda [C.37] y 30 a la variante ómicron BA.1 [B.1.1.529]. Asimismo, se empleó un número de ocho muestras negativas, aunque la intención de la prueba no sea de diagnóstico clínico.

La extracción de ARN total de las muestras clínicas fue realizada de manera manual, automatizada o mediante perlas magnéticas, con métodos basados en columnas de sílice. La detección de SARS-CoV-2 se realizó mediante RT-PCR en tiempo real, empleando un termociclador CFX (Laboratorios Bio-Rad, Hercules, CA, USA) y pruebas diagnósticas basadas en la amplificación de diversos genes de SARS-CoV-2 [E, ORF1ab, RdRp, S y/o N]. Las muestras con un Ct <40 para al menos dos obje-

tivos genéticos se definieron como positivas. Asimismo, se emplearon pruebas de antígeno para la detección de muestras positivas [4/110]. Algunas muestras fueron realizadas por secuenciación parcial del gen que codifica para la proteína S por método tradicional de Sanger, siguiendo el protocolo de secuenciación recomendado por el CDC<sup>15</sup>, mediante un secuenciador ABI 3500 (ThermoFisher Scientific). Para otras muestras, se llevó a cabo la secuenciación de genomas completos y se utilizó el protocolo de amplificación y secuenciación de ARTIC para MinION modificado<sup>16</sup> y de Midnight para MinION<sup>17</sup> [Oxford Nanopore Technologies]. También se utilizó el kit Illumina COVIDSeq Test IVD<sup>18</sup> en un secuenciador NextSeq [Illumina].

Para establecer el rango de uso del kit, se aplicó un análisis de regresión lineal, que se realizó con el programa Prism, versión 7 [GraphPad Software, San Diego, CA, USA].

**Figura 1.** Curvas de amplificación de concentraciones decrecientes de los controles positivos específicos de cada variante.



► Las curvas de amplificación muestran la típica forma sigmoidea en escala logarítmica, en todo el rango de concentraciones ensayado. En el gráfico superior (A), se muestran las curvas para la detección de la variante delta y en el gráfico inferior (B), se muestran las curvas para la detección de la variante ómicron BA.1. Las concentraciones se expresan en número de copias por microlitro [cp/μL].

**Tabla I.** Panel de muestras empleadas para la validación clínica. Se incluyen los valores de Ct de las determinaciones diagnósticas iniciales y de las determinaciones para la identificación de variantes con las pruebas desarrolladas

CÓDIGO	MUESTRA POSITIVA: VARIANTE	CT	KIT DELTA - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT DELTA - DETECCIÓN WT (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN WT (CT)	CÓDIGO	MUESTRA POSITIVA: VARIANTE	CT	KIT DELTA - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT DELTA - DETECCIÓN WT (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN WT (CT)
1	ALPHA	23,30	-	23,51	-	24,00	56	DELTA	24,20	25,59	-	-	25,70
2	ALPHA	24,18	-	25,60	-	26,15	57	DELTA	22,00	21,63	-	-	22,20
3	ALPHA	24,36	-	24,72	-	25,87	58	DELTA	19,00	17,87	-	-	18,66
4	ALPHA	19,00	-	19,34	-	22,54	59	DELTA	20,00	19,65	-	-	20,49
5	ALPHA	<30	-	27,68	-	29,75	60	DELTA	19,00	19,03	-	-	19,68
6	ALPHA	22,00	-	22,34	-	24,67	61	DELTA	19,00	19,60	-	-	20,59
7	ALPHA	21,00	-	21,98	-	23,57	62	DELTA	14,00	13,82	-	-	15,50
8	ALPHA	21,00	-	21,87	-	22,98	63	DELTA	23,00	22,29	-	-	23,16
9	ALPHA	22,57	-	20,77	-	23,71	64	DELTA	18,00	17,90	-	-	17,66
10	ALPHA	18,26	-	19,39	-	25,25	65	DELTA	21,50	21,54	-	-	21,90
11	ALPHA	20,00	-	18,68	-	23,45	66	DELTA	16,40	15,75	-	-	16,40
12	ALPHA	<30	-	28,90	-	30,56	67	DELTA	24,00	22,97	-	-	22,99
13	ALPHA	<30	-	27,84	-	29,63	68	DELTA	21,00	19,42	-	-	21,30
14	ALPHA	test de ag positivo	-	25,60	-	27,20	69	DELTA	19,00	17,59	-	-	19,20
15	ALPHA	test de ag positivo	-	27,61	-	28,95	70	DELTA	22,40	21,34	-	-	25,63
16	LAMBDA	test de ag positivo	-	28,64	-	30,02	71	DELTA	20,00	20,25	-	-	21,00
17	LAMBDA	31,00	-	31,56	-	32,98	72	DELTA	28,00	27,01	-	-	28,20
18	LAMBDA	20,00	-	21,17	-	23,25	73	DELTA	23,00	23,68	-	-	23,50
19	LAMBDA	16,10	-	17,65	-	19,32	74	DELTA	26,00	22,25	-	-	26,00
20	LAMBDA	27,00	-	28,56	-	29,67	75	DELTA	19,00	20,58	-	-	21,00
21	LAMBDA	21,00	-	21,96	-	23,58	76	DELTA	26,00	24,02	-	-	26,12
22	LAMBDA	20,50	-	21,48	-	23,87	77	DELTA	23,00	19,89	-	-	22,90
23	LAMBDA	24,00	-	24,97	-	26,58	78	DELTA	21,00	19,72	-	-	21,30
31	LAMBDA	19,10	-	20,48	-	22,67	79	DELTA	23,00	22,37	-	-	23,20
32	LAMBDA	13,70	-	13,50	-	15,62	80	DELTA	21,00	23,40	-	-	23,60
33	LAMBDA	17,00	-	18,45	-	19,52	81	OMICRON	21,00	-	22,30	26,09	-
34	LAMBDA	19,00	-	19,57	-	20,11	82	OMICRON	16,00	-	16,20	17,79	-

CÓDIGO	MUESTRA POSITIVA: VARIANTE	CT	KIT DELTA - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT DELTA - DETECCIÓN WT (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN WT (CT)	CÓDIGO	MUESTRA POSITIVA: VARIANTE	CT	KIT DELTA - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT DELTA - DETECCIÓN WT (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DETECCIÓN WT (CT)
35	LAMBDA	14,30	-	18,41	-	16,70	83	OMICRON	17,00	-	16,85	16,87	-
36	LAMBDA	19,70	-	18,90	-	21,06	84	OMICRON	26,00	-	25,90	32,85	-
42	LAMBDA	17,00	-	17,94	-	18,21	85	OMICRON	13,69	-	14,12	18,88	-
43	LAMBDA	20,00	-	21,54	-	21,99	86	OMICRON	18,22	-	19,30	20,91	-
45	LAMBDA	17,00	-	18,26	-	18,94	87	OMICRON	21,75	-	23,04	29,28	-
51	LAMBDA	21,70	-	22,02	-	22,89	88	OMICRON	17,49	-	19,00	21,45	-
55	LAMBDA	21,00	-	21,90	-	22,37	89	OMICRON	16,06	-	18,25	19,72	-
24	GAMMA	25,49	-	26,03	-	27,00	90	OMICRON	17,41	-	17,60	22,13	-
25	GAMMA	25,00	-	25,25	-	26,04	91	OMICRON	17,00	-	18,96	22,99	-
26	GAMMA	17,00	-	18,33	-	19,10	92	OMICRON	20,60	-	22,31	25,15	-
27	GAMMA	18,00	-	18,54	-	19,14	93	OMICRON	18,50	-	20,30	25,12	-
28	GAMMA	19,30	-	19,24	-	20,48	94	OMICRON	18,80	-	23,50	25,04	-
29	GAMMA	24,50	-	24,66	-	28,16	95	OMICRON	22,40	-	23,60	25,08	-
30	GAMMA	23,80	-	27,39	-	31,86	96	OMICRON	21,10	-	22,30	27,20	-
37	GAMMA	21,20	-	20,10	-	22,32	97	OMICRON	21,00	-	22,96	28,48	-
38	GAMMA	21,00	-	21,25	-	23,27	98	OMICRON	20,10	-	21,36	26,12	-
39	GAMMA	17,00	-	17,93	-	18,99	99	OMICRON	17,60	-	19,40	25,77	-
40	GAMMA	27,00	-	27,89	-	29,35	100	OMICRON	16,60	-	18,50	20,47	-
41	GAMMA	test de ag positivo	-	26,54	-	28,14	101	OMICRON	26,00	-	27,85	31,42	-
44	GAMMA	22,00	-	21,95	-	24,14	102	OMICRON	30,00	-	30,04	34,96	-
46	GAMMA	16,00	-	16,54	-	18,54	103	OMICRON	23,00	-	21,00	24,82	-
47	GAMMA	21,00	-	22,15	-	24,68	104	OMICRON	24,00	-	24,92	31,38	-
48	GAMMA	17,00	-	17,94	-	20,87	105	OMICRON	24,00	-	22,91	29,74	-
49	GAMMA	18,00	-	18,67	-	21,34	106	OMICRON	23,00	-	21,54	29,18	-
50	GAMMA	20,60	-	20,34	-	23,01	107	OMICRON	24,00	-	20,74	27,38	-
52	GAMMA	20,00	-	19,95	-	22,98	108	OMICRON	19,00	-	21,00	28,45	-
53	GAMMA	18,00	-	18,12	-	20,14	109	OMICRON	24,00	-	26,41	26,20	-
54	GAMMA	22,00	-	22,68	-	24,87	110	OMICRON	22,70	-	22,00	24,23	-

CÓ- DIGO	MUESTRA	CT	KIT DELTA - DETEC- CIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT DELTA - DETEC- CIÓN WT (CT)	KIT OMICRON BA.1 - DE- TECCIÓN MUTACIÓN (CT)	KIT OMI- CRON BA.1 - DETEC- CIÓN WT (CT)
1054	Negativa	-	-	-	-	-
1061	Negativa	-	-	-	-	-
1090	Negativa	-	-	-	-	-
1093	Negativa	-	-	-	-	-
1094	Negativa	-	-	-	-	-
1096	Negativa	-	-	-	-	-
1136	Negativa	-	-	-	-	-
1137	Negativa	-	-	-	-	-
1138	Negativa	-	-	-	-	-
1140	Negativa	-	-	-	-	-

## Resultados

Se desarrolló una prueba comercial RUO para la detección rápida y directa de las variantes delta y ómicron BA.1, utilizando la misma muestra sobre la que se hace el diagnóstico original. La prueba está basada en la tecnología *One-Step* RT-PCR, que combina en un solo paso la retrotranscripción de ARN para generar ADN complementario (ADNc) mediante la enzima transcriptasa reversa (RT) y una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias específicas con la hidrólisis de sondas para la detección en tiempo real<sup>5-7</sup>. Todos los componentes de la prueba son entregados como un conjunto de reactivos listos para usar. Se escoge el formato duplex para la detección de cada variante y la prueba se basa en las diferencias de la secuencia génica entre la variante y la secuencia original de SARS-CoV-2 (NC\_045512.2). En el diseño de las sondas se utilizó el fluoróforo FAM (canal verde, longitud de onda de emisión: 520 nm) para identificar la presencia de

la variante y el fluoróforo Texas Red (canal naranja, longitud de onda de emisión: 603 nm) para identificar la presencia de material viral *wild type*. Entre los componentes se entrega, además, un control positivo (CPD o CP01) que contiene ADN de doble cadena, correspondiente a la mutación a detectar (delta u ómicron BA.1, en cada prueba), un CP con ARN correspondiente al virus sin la mutación (CP *wild type*) y un control negativo (CN) para validar cada ensayo.

A continuación, se informan las principales características de desempeño diagnóstico de las pruebas. Para confirmar la funcionalidad de los conjuntos de cebadores y sondas, se demostró la existencia de una relación lineal entre el valor de Ct obtenido mediante la amplificación de material genético y el logaritmo de su concentración. Para ello se realizaron curvas de amplificación, utilizando concentraciones decrecientes del CP de las variantes delta u ómicron BA.1, en un rango de detección comprendido entre  $10^5$  cp/μL y  $10^1$  cp/μL (Figura 1).

La regresión lineal para el conjunto de oligos para delta u ómicron BA.1 demostró un alto grado de linealidad ( $R^2=0,98$  y  $R^2=0,99$ , respectivamente), con un valor de la pendiente de  $-3,1 \pm 0,21$  y  $-3,4 \pm 0,2$ , respectivamente, lo que indica una eficiencia del 93,4% y del 102,4%, respectivamente (Figura 2). El alto valor de los coeficientes de regresión obtenidos y la observación de curvas típicas de fluorescencia con una baja dispersión de valores de Ct en réplicas indica la utilidad de cada prueba en un rango de detección superior a 4 órdenes de magnitud ( $10^5 - 10^1$  cp/μL) o unidades logarítmicas, con valores de Ct menores o iguales a 38, con desvíos estándar para un mismo nivel menores o iguales a 1 unidad, hasta concentraciones de 10 cp/μL. Los valores de Ct obtenidos para la detección de bajos niveles de material genético específico dan una idea de la sensibilidad analítica de la técnica, con una estimación de que el LOD para ambas pruebas será inferior a 10 cp/μL.

A fin de demostrar la capacidad de la prueba para detectar

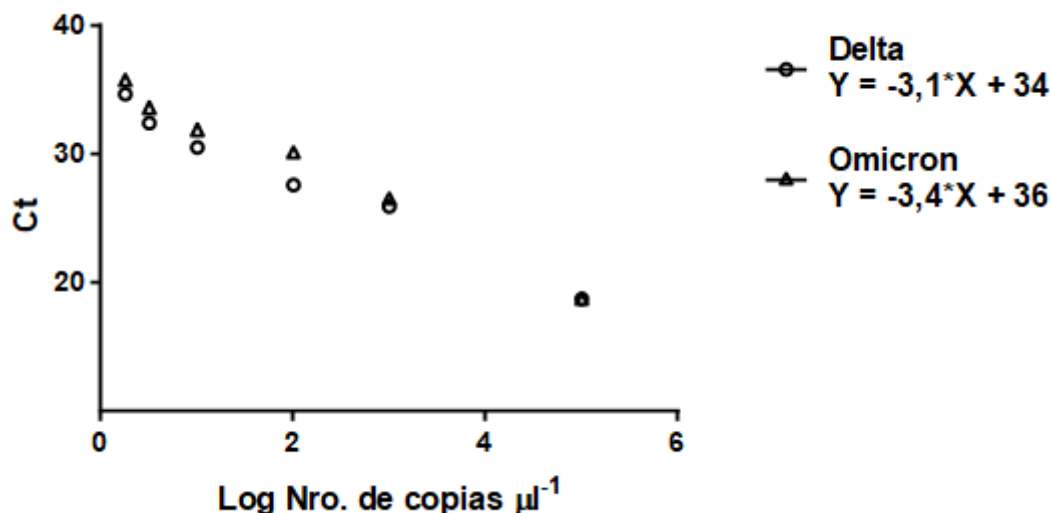
**Tabla II.** Muestras identificadas por secuenciación como variante delta.

110 muestras	Resultado de muestras secuenciadas	Sensibilidad		Especificidad
		Positivas	Negativas	
Prueba de detección de delta	Positivas	25	0	100 %
	Negativas	0	85	100 %

**Tabla III.** Muestras identificadas por secuenciación como variante ómicron BA.1.

110 muestras	Resultado de muestras secuenciadas	Sensibilidad		Especificidad
		Positivas	Negativas	
Prueba de detección de ómicron BA.1	Positivas	30	0	100 %
	Negativas	0	80	100 %

**Figura 2.** Curva de calibración para el conjunto de cebadores y sondas utilizados para la cuantificación de la sensibilidad analítica.



► La regresión lineal se utilizó para calcular la eficiencia de la reacción de amplificación. Los valores de Ct fueron graficados contra el Log del número de copias  $\mu\text{l}^{-1}$ .

concentraciones bajas de material genético sin mutación, se utilizaron diluciones del CP *wild type* provisto con el *kit*, así como diluciones del material de referencia certificado de concentración similar. De acuerdo con los resultados obtenidos en estas experiencias, es posible detectar material genético correspondiente al linaje Wuhan, cuando este está presente, en una concentración de al menos 2,3 cp/ $\mu\text{L}$  para la prueba de la variante delta y de al menos 23,5 cp/ $\mu\text{L}$  para la prueba de la variante ómicron BA.1 (Figura 3). Estos resultados se obtuvieron al ensayar concentraciones aproximadas a 2350 cp/mL del CP *wild type* en la prueba de la variante delta, que obtuvo 10/10 valores aceptables de CT, mientras que para la prueba de ómicron BA.1, en la concentración 2350 cop/mL se obtuvieron solo 2/10 valores aceptables, por lo que se ensayó una concentración 10 veces mayor, para la cual se obtuvieron 10/10 resultados aceptables. Asimismo, se comprobó que los ensayos no presentan amplificación en el canal específico para la mutación en estudio, cuando se utiliza como muestra el control *wild type*, por lo que se infiere que la prueba es analíticamente específica.

Por otro lado, los análisis de alineamiento llevados a cabo sobre las secuencias de genoma completo de las variantes presentes en la región geográfica, con las secuencias de los cebadores y sondas para detectar cada mutación, demostraron que no hay reacción cruzada sobre un N=100 de secuencias de genomas para alfa, gamma, lambda, y delta y ómicron BA.1 para las pruebas respectivas.

A fin de evaluar la sensibilidad clínica de cada prueba, se recurrió a un panel de 110 muestras de ARN. Estas correspondían a 110 casos que fueron confirmados como positivos para SARS-CoV-2 por RT-PCR y prueba de antígeno, secuenciados y clasificados en VOC o VOI (Tabla I).

#### Discriminación de mutantes y no mutantes para prueba

#### variante delta

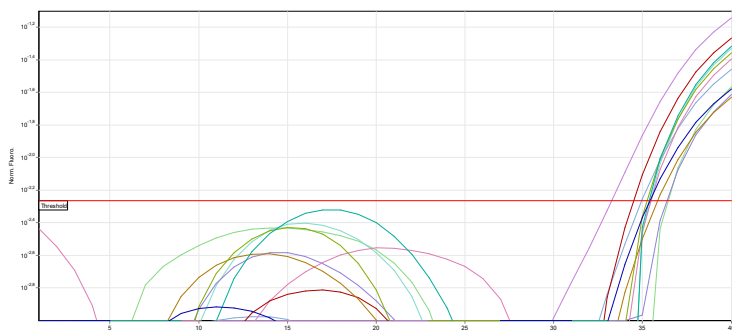
Entre las 110 muestras clínicas clasificadas, 25 contenían la mutación de la variante delta y 85 no contenían dicha mutación [*wild type*]. La prueba de detección arrojó que, en presencia de ARN de una muestra clínica clasificada como *delta* o cuando se agregó el CP para delta, hubo detección con la sonda específica para la mutación de delta (canal verde); mientras que en presencia de muestras *wild type* para la mutación o del CP *wild type*, hubo detección con la sonda específica para la secuencia sin mutación (canal naranja). Con un formato dualplex, se obtuvieron resultados concordantes para las 25 muestras de delta clasificadas por secuenciación con un 100% de certeza, y se logró la discriminación entre presencia o ausencia de la mutación para dicha variante (Tabla II). A modo ejemplo, se representa la amplificación de la muestra de un paciente, clasificada como variante delta, y sus respectivos controles (Figura 4).

#### Discriminación de mutantes y no mutantes para prueba variante ómicron BA.1

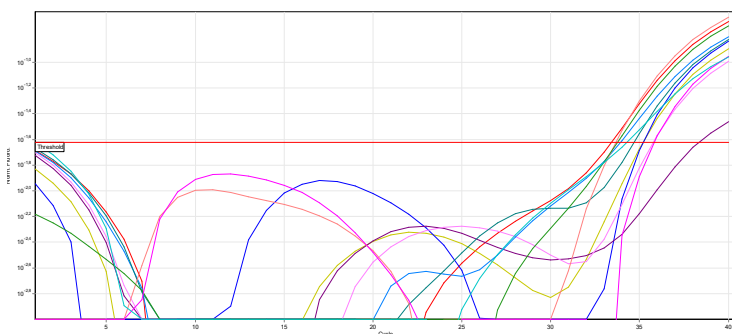
Entre las 110 muestras clínicas clasificadas, 30 contenían la mutación de la variante ómicron BA.1 y 80 eran *wild type*. El ensayo llevado a cabo, en presencia de muestras clínicas clasificadas como variante ómicron BA.1 o cuando se agregó el CP para ómicron BA.1, mostró detección con la sonda específica para la mutación ómicron BA.1 (canal verde). Por el contrario, para muestras sin la mutación o el CP *wild type*, hubo detección con la sonda específica para la secuencia sin mutación (canal naranja). La prueba permitió clasificar las 30 muestras de ómicron BA.1, discriminando si contenían o no contenían la mutación, en concordancia con los resultados de secuenciación. Los resultados del formato

**Figura 3.** Curvas de amplificación para la cuantificación de la sensibilidad analítica para el control positivo sin la mutación (*wild type*).

Prueba Detección Omicron BA.1			
Réplica	Muestra	Ct	Promedios Ct
1	CP Wild type	33,43	34,985
2	CP Wild type	35,2	
3	CP Wild type	35,21	
4	CP Wild type	38,34	
5	CP Wild type	35,77	
6	CP Wild type	33,95	
7	CP Wild type	34,71	
8	CP Wild type	33,65	
9	CP Wild type	33,77	
10	CP Wild type	35,82	
11	Material de referencia 23500 cop/mL	34,3	34,35
12	Material de referencia 23500 cop/mL	34,5	
13	Material de referencia 23500 cop/mL	34,25	



Prueba Detección Delta			
Réplica	Muestra	Ct	Promedios Ct
1	CP Wild type	36,39	35,26
2	CP Wild type	35,39	
3	CP Wild type	34,96	
4	CP Wild type	36,34	
5	CP Wild type	33,25	
6	CP Wild type	35,43	
7	CP Wild type	34,48	
8	CP Wild type	35,84	
9	CP Wild type	35,23	
10	CP Wild type	35,32	
11	Material de referencia 2350 cop/mL	35,41	34,92
12	Material de referencia 2350 cop/mL	34,33	
13	Material de referencia 2350 cop/mL	35,01	



▶ Las curvas de amplificación conservan la típica forma sigmoidea en escala logarítmica, usando el nivel mínimo de material genético correspondiente al linaje Wuhan que es posible detectar en cada prueba de detección.

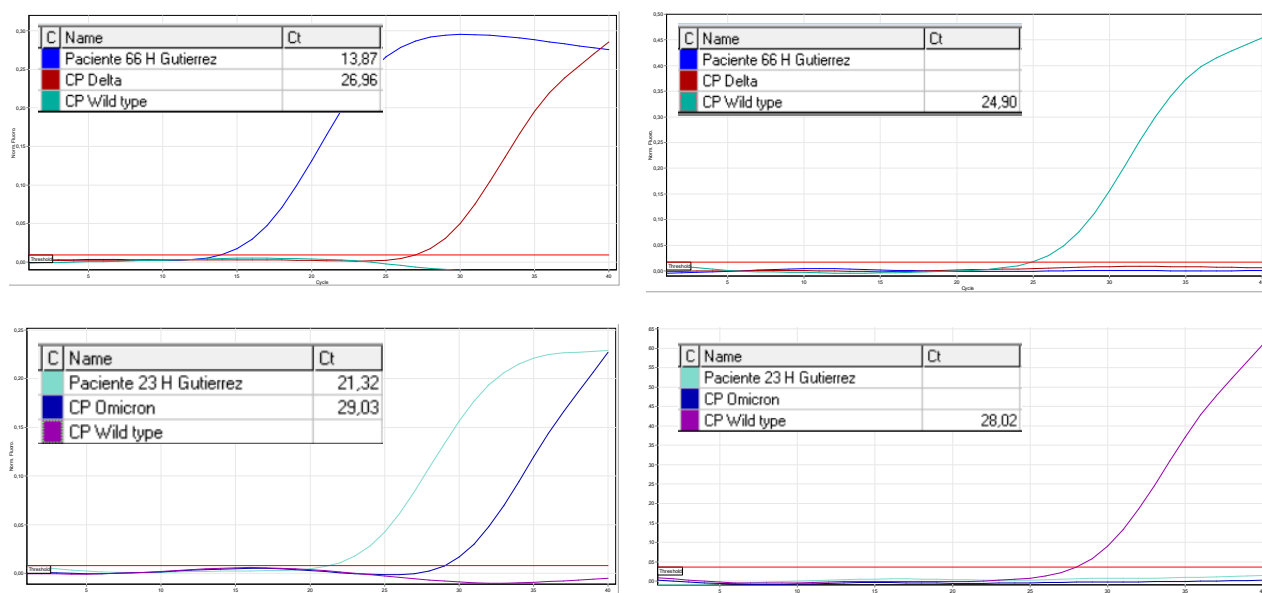
dualplex se obtuvieron con un 100 % de certeza (Tabla III). A modo de ejemplo, se representa la amplificación de la muestra de un paciente, clasificada como variante ómicron BA.1, y sus respectivos controles (Figura 4).

La concordancia de los resultados arrojados por la prueba de variantes sobre el panel de 110 muestras comparado con la clasificación por secuenciación correspondió a un 100 %. Debido a que la discrepancia entre los resultados de secuenciación y pruebas de RT-PCR para discriminar variantes subyace en la carga viral<sup>19</sup>, se establece una sensibilidad relativa del 100 % (110/110) y una especificidad del 100 % (110/110), considerando valores de Ct entre 15 - 38 para la prueba de identificación. Sin embargo, si se reduce el rango de detección hasta un Ct ≤32, la sensibilidad de la prueba es de 98,18 % y la especificidad sigue siendo de 100 %, lo cual significa que no hay falsos positivos (Tabla I, II y III). Cabe destacar que la especificidad clínica fue confirmada realizando la prueba con muestras de ARN viral de variantes que no fueran delta u ómicron BA., para los ensayos de detección respectivos. También se incluyó en el panel un grupo de ocho muestras negativas. Ninguno de los virus de variantes previamente clasificadas por secuenciación mostró reactividad cruzada en la detección positiva de la prueba para las mutaciones de delta u ómicron BA.1. Al no haber existido ningún caso de falso positivo (Tabla I), este ensayo refuerza la especificidad observada en la validación clínica.

### Discusión

La aparición recurrente de mutaciones en la proteína S del virus SARS-CoV-2 ha aumentado la actividad comprometida con el diagnóstico y control de infecciones del virus, incluidas las actividades de secuenciación sobre el genoma viral para vigilancia epidemiológica, en pacientes COVID-19 con reinfecciones o fallas de vacunación y en investigaciones de brotes<sup>1</sup>. La identificación de variantes del virus, especialmente si los cambios afectan a la proteína S, proteína común en todas las vacunas aprobadas hasta la fecha, tiene importancia epidemiológica y clínica. En consecuencia, la detección rápida de variantes por métodos directos y más accesibles como RT-PCR en tiempo real resulta de importancia para las organizaciones sanitarias en el monitoreo de la epidemiología local, la toma de acciones y la adopción de medidas específicas para disminuir la transmisión comunitaria.

En nuestro país, la tercera ola fue inicialmente impulsada por la variante delta, sin embargo, la mayor transmisibilidad de ómicron resultó en el total desplazamiento de delta entre las semanas 1 - 3 de 2022, en todas las provincias del país estudiadas, y es actualmente la variante mayoritariamente detectada<sup>20</sup>. De acuerdo con la información brindada por el proyecto PAIS en el último informe<sup>8</sup>, en las semanas del 09-11-21 al 15-02-22, de 1139 casos diagnosticados positivos, 915 casos correspondieron a la variante ómicron (80 %); 219 casos, a la variante delta (19 %) y tres casos (0,3 %), a las variantes mu (2) y lambda (1), mientras que otros dos fueron indeterminados. Estos datos se hallaron en con-

**Figura 4.** Ensayo de amplificación utilizando muestras clínicas.

► La curva de amplificación en el canal verde (A) y (C) muestra la amplificación por parte del conjunto de cebadores y sondas dirigidos a la secuencia con la mutación, en una muestra clínica positiva para SARS-CoV-19, clasificada como variante delta, y el control sintético CP delta (A), a la vez que en una muestra clínica positiva para SARS-CoV-19, clasificada como variante ómicron BA.1, y el control sintético CP ómicron BA.1 (C). La curva para la sonda dirigida a la secuencia sin mutación (control wild type) permanece sin señal de amplificación. La curva de amplificación en el canal naranja (B) y (D) muestra la detección por parte de la sonda dirigida a la secuencia sin mutación, usando el control wild type en ambas pruebas (B) y (D). En contraste, la sonda para las secuencias con la mutación permanece sin señal de amplificación.

sonancia con lo informado en el Reporte N° 29 de PAIS, y en ambos casos, el cambio de predominio de delta a ómicron fue abrupto. Además, todas las secuencias de la variante ómicron pertenecieron al sublinaje BA.1 o su derivado BA.1.1. Solo se detectó el sublinaje BA.2 en un caso.

En este trabajo, se demuestra que las pruebas desarrolladas por Biocientífica S.A. presentan un límite de detección menor que 10 cp/μL y una alta sensibilidad y especificidad clínica (100%) para detectar mutaciones en el gen que codifica para la proteína S de las variantes delta y ómicron BA.1, que es comparable con los resultados de secuenciación. A fin de lograrlo, se validó la capacidad de la prueba para identificar dicho material viral en un panel de 110 muestras clínicas con diagnóstico positivo obtenido por RT-PCR en tiempo real y/o pruebas de antígeno, posteriormente secuenciadas para ser clasificadas de acuerdo con su linaje.

Respecto de otras pruebas presentes en el mercado y de origen extranjero, los kits desarrollados por Biocientífica S.A. presentan la ventaja de identificar exclusivamente las variantes que circulan en la actualidad en nuestro territorio y lo hacen a partir de una única reacción. Esto se debe a que se utilizó información epidemiológica brindada por organismos de referencia nacionales y a que los kits se validaron con muestras clínicas secuenciadas de pacientes locales; por otro lado, las pruebas extranjeras<sup>9,10</sup> requieren reacciones sucesivas para concluir la identificación de variantes, ya que se basan en la detección de múltiples mutaciones en una región del genoma que, por descarte, permiten realizar

la identificación. En cuanto a los parámetros de sensibilidad y especificidad, el análisis de cinco kits de origen extranjero para variantes arrojó una especificidad y sensibilidad del 100% y 96-100%, respectivamente<sup>9</sup>. Estos valores son comparables con los resultados obtenidos en la validación de los kits desarrollados por la empresa, teniendo en cuenta que se alcanza el 100% de especificidad y el 100% de sensibilidad al considerar un Ct de 38 como límite de rango de detección.

En entornos de recursos limitados, estos ensayos dual-plex de variantes son útiles como herramientas de detección rápida, directa y relativamente más económicas para identificar muestras que, de lo contrario, se identificarían por secuenciación. Nosotros sugerimos que esta prueba pueda ser implementada como una estrategia de *screening* para detectar mutaciones de SARS-CoV-2 con efectos biológicos patogénicos. Sin embargo, los fabricantes debemos estar atentos a responder a la aparición de nuevas variantes clave y reconocemos que NGS sigue siendo el estándar de oro.

#### Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Laura Valinotto y a la Dra. Mariana Viegas del Laboratorio de Virología / Secuenciación del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, quienes nos cedieron muestras clasificadas de SARS-CoV-2 de acuerdo con los lineamientos de WHO.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflicto de intereses.

## Referencias bibliográficas

1. World Health Organization. Guidance for surveillance of SARS-CoV-2 variants: interim guidance [Internet]. World Health Organization; 2021 Aug 09 [cited 2022 Mar 01]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/343775>
2. World Health Organization. Tracking SARS-CoV-2 Variants [Internet]. World Health Organization; 2022 [cited 2022 Mar 01]. Available from: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
3. Islam SR, Prusty D, Manna SK. Structural basis of fitness of emerging SARS-CoV-2 variants and considerations for screening, testing and surveillance strategy to contain their threat. medRxiv 2021.
4. Armstrong GL, MacCannell DR, Taylor J, Carleton HA, Neuhaus EB, Bradbury RS, et al. Pathogen genomics in public health. *New England Journal of Medicine* 2019; 381: 2569-80.
5. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020; 25: 2000045.
6. La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson, SM. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): A systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. *Reprod Biomed. Online* 2020; 41: 483–99.
7. Esbin MN, Whitney ON, Chong S, Maurer A, Darzacq X, Tjian R. Overcoming the bottleneck to widespread testing: a rapid review of nucleic acid testing approaches for COVID-19 detection. *RNA* 2020; 26: 771–83.
8. PAIS. Reporte N°30 - Vigilancia activa de variantes de SARS-CoV-2 [Internet]. Proyecto Argentino Interinstitucional de genómica de SARS-CoV-2; 2022 Feb 24 [cited 2022 Mar 01]. Available from: <http://pais.qb.fcen.uba.ar/reports.php#reporte30>
9. De Pace V, Bruzzone B, Orsi A, Ricucci V, Domnich A, Guarona G, et al. Comparative Analysis of Five Multiplex RT-PCR Assays in the Screening of SARS-CoV-2 Variants. *Microorganisms* 2022; 10: 306.
10. Kami W, Kinjo T, Arakaki W, Oki H, Motooka D, Nakamura S. Rapid and simultaneous identification of three mutations by the Novaplex™ SARS-CoV-2 variants I assay kit. *Journal of Clinical Virology* 2021; 141: 104877.
11. Hadfield J, Megill C, Bell SM, Huddleston J, Potter B, Callender C, et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics* 2018; 34: 4121–3.
12. Sievers F, Higgins DG. Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. *Protein Science* 2018; 27: 135-45.
13. Khare S, Gurry C, Freitas L, Schultz MB, Bach G, Diallo A, et al. GISAID's Role in Pandemic Response. *China CDC Weekly* 2021; 3: 1049-51.
14. Corpet F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucl. Acids Res.* 1988; 16: 10881-90
15. Paden CR, Ta Y, Queen K, Zhang J, Li Y, Uehara A, et al. Rapid, Sensitive, Full-Genome Sequencing of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerging Infectious Diseases* 2020; 26: 2401-5.
16. Quick, J. nCoV-2019 sequencing protocol [Internet]. University of Birmingham; 2020 Aug 25 [cited 2022 Mar 01]. Available from: <https://www.protocols.io/view/ncov-2019-sequencing-protocol-v3-locost-bp2l6n26rgqe/v3>
17. Oxford Nanopore Technologies. PCR tiling of SARS Cov-2 virus with rapid barcoding and midnight [Internet]. Oxford Nanopore Technologies; 2021 Mar [cited 2022 Mar 01]. Available from: <https://community.nanoporetech.com/protocols/pcr-tiling-of-sars-cov-2-virus-with-rapid-barcoding-and-midnight>
18. Illumina. Illumina COVIDSeq Test IVD Documentation [Internet]. Illumina; 2022 Feb 07 [cited 2022 Mar 01]. Available from: <https://support.illumina.com/clinical/support/clinical/kits/illumina-covidseq-test-ivd/documentation.html>
19. Miguères M, Lhomme S, Trémeaux P, Dimegli, C, Ranger N, Latour J et al. Evaluation of two RT-PCR screening assays for identifying SARS-CoV-2 variants. *Journal of Clinical Virology* 2021; 143: 104969.
20. Adam. What scientists know about new, fast-spreading coronavirus variants. *Nature* 2021; 594: 19–21.

## REVISIÓN

# Biología aplicada al diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Avances en biofármacos, bioterapias y biomarcadores. Parte 1

*Biotechnology applied to the diagnosis and treatment of osteoporosis.*

*Review of biotechnological advances in pharmacy and biochemistry Part 1*

Sterin Prync, Aída Edith<sup>1\*</sup>; Bagnato, Julieta<sup>1</sup>; Olano, Lucía<sup>1</sup>; Ronchi Rivara, Juan Pablo<sup>1</sup>; Solari Ligo, María Florencia<sup>1</sup>; Torrens, Pierina<sup>1</sup>; Carlucci, Adriana Mónica<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Departamento Farmacia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

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

**Resumen** Introducción: La osteoporosis es un desorden óseo que incrementa el riesgo a padecer fracturas que constituye un problema de salud pública. Objetivos: Estudiar los avances biotecnológicos en relación con biofármacos, bioterapias y biomarcadores aplicados a la osteoporosis. Materiales y Métodos: Se realizó una búsqueda bibliográfica con las palabras clave *osteoporosis, biopharmaceuticals, biotherapies, microbiota, y biomarkers* en *MEDLINE/Pubmed, Scielo, Lilacs - BVS y Google Scholar*. Se analizaron 53 trabajos científicos en inglés o español, publicados entre 2005 y 2019. Resultados: Los péptidos recombinantes análogos de la hormona paratiroidea son biofármacos aprobados como alternativas a los fármacos tradicionales en la osteoporosis. La microbiota intestinal aparece como una bioterapia en estudio. Se describen distintos tipos de marcadores y biomarcadores y el desarrollo de herramientas como el algoritmo *Fracture Risk Assessment Tool (FRAX)*. Conclusiones: La biotecnología bioquímica y farmacéutica tiene una activa e importante participación en alternativas que pueden beneficiar la calidad de vida del paciente y disminuir el problema sanitario de esta compleja patología.

**Palabras clave:** osteoporosis, biofármacos, bioterapias, microbiota intestinal, biomarcadores.

**Abstract** Introduction: Osteoporosis is a bone disorder that increases the risk of fractures, and thus constitutes a public health problem. Objectives: To study the biotechnological advances related to biopharmaceuticals, biotherapies and biomarkers applied to osteoporosis. Material and Methods: A bibliographic search was carried out with the key words *osteoporosis, biopharmaceuticals, biotherapies, microbiota, and biomarkers* in *MEDLINE / Pubmed, Scielo, Lilacs VBS and Google Scholar*. A total of 53 scientific papers written in English or Spanish and published between 2005 and 2019 were analyzed. Results: Recombinant peptides analogous to parathyroid hormone are approved biopharmaceuticals used as alternatives to traditional drugs. The intestinal microbiota appears as a biotherapy under study. Different types of markers and biomarkers and the development of tools such as the *Fracture Risk Assessment Tool (FRAX)* algorithm are described. Conclusions: Biochemical-pharmaceutical biotechnology has an active and important participation in alternatives that can benefit the patient's quality of life and reduce the health problem of this complex pathology.

**Key words:** Osteoporosis, biopharmaceuticals, biotherapies, microbiota, biomarkers

## Introducción

La osteoporosis (OP) es un desorden óseo que incrementa el riesgo de que una persona padezca fracturas debido a baja densidad mineral ósea (DMO), alteración de la microarquitectura o mineralización y/o disminución de la resistencia ósea.<sup>1</sup> Los huesos son remodelados continuamente, están sometidos a la resorción por osteoclastos y son sintetizados *de novo* por osteoblastos. Este proceso permite el mantenimiento de la resistencia mecánica y la reparación. Un desbalance en la actividad remodeladora en la que la resorción excede la formación resulta normalmente en los cambios fisiopatológicos observados en la osteoporosis. En la regulación de la función ósea, están involucrados y cumplen un rol fundamental diversas hormonas y factores de crecimiento. (Ver Tabla I)

La etiología de esta patología se puede dividir en dos subtipos que se esquematizan en la figura 1:

- Osteoporosis primaria: frecuentemente asociada a la deficiencia hormonal por sexo y edad, presenta deterioro del hueso trabecular. La reducción de la producción de estrógenos en mujeres posmenopáusicas (PMO) causa un incremento significativo de la pérdida ósea.<sup>1</sup>
- Osteoporosis secundaria a enfermedades o medicación: en el síndrome de Cushing se acelera la pérdida ósea por exceso en la producción de glucocorticoides; este grupo químico se considera, además, uno de los medicamentos más vinculados a osteoporosis secundaria, OIG (osteoporosis inducida por glucocorticoides), como evidencia su uso en enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoidea.

En los hombres se asocia, además, al exceso de ingesta alcohólica, al hipogonadismo y a la privación androgénica en el cáncer de próstata. En mujeres, se relaciona con hipercalcemia, malabsorción de calcio, hiperparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, hipertiroidismo e hipercalcemia hipocalciúrica.

La sarcopenia es un síndrome caracterizado por pérdida de masa muscular progresiva y generalizada y pérdida de calidad y fuerza muscular esquelética, que aumenta el riesgo de discapacidad física. Es una condición que, en adultos mayores, incrementa el riesgo de caídas y fracturas por fragilidad ósea y se denomina *osteosarcopenia*.

## Materiales y Métodos

Se efectuó una revisión de la literatura, buscando artículos científicos de relevancia sobre productos biofarmacéuticos, bioterapias y biomarcadores aprobados o en instancias clínicas, destinados a OP para, posteriormente, realizar una descripción del tema. La búsqueda se realizó utilizando como palabras clave y operadores booleanos: “osteoporosis”, “*biopharmaceuticals*”, “*biotherapies*”, “*biomarkers*” e “*intestinal microbiota*” y se llevó a cabo en las bases de datos de MEDLINE (a través de PubMed), en Scielo (Scientific Electronic Library Online), Lilacs - BVS y en Google Scholar.

Los criterios de inclusión usados fueron: i) solo artículos

en idioma inglés o español, ii) publicados entre 2005-2019, iii) que se tratara de una revisión o de un artículo de interés que cubriera alguno de los aportes mencionados de la biotecnología.

Los criterios de exclusión fueron: i) existencia de patología concomitante, ii) 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.

## Resultados

### Fármacos tradicionales utilizados en la osteoporosis

Las características de los fármacos utilizados en la actualidad para el tratamiento de OP<sup>1,3</sup> y sus dosis están sintetizadas en la tabla II. Estos fármacos se pueden clasificar en bifosfonatos, moduladores selectivos del receptor estrogénico (SERM) y estrógenos conjugados.

### Bifosfonatos

Los bifosfonatos (BP), con excepción del ibandronato, son considerados la primera línea de tratamiento para la prevención y/o el tratamiento de OP en mujeres posmenopáusicas (OPMPM) y pacientes con osteoporosis inducida por glucocorticoides (OPIGC). El alendronato, el risedronato

**Tabla I.** Función de las hormonas y factores de crecimiento en el crecimiento óseo.<sup>1</sup>

Hormonas y factores de crecimiento	Función
Estrógenos y progesterona	Tienen un efecto significativo en la remodelación ósea al inhibir principalmente la ruptura ósea.
Citoquinas	Involucradas en la remodelación ósea: activador del receptor del factor nuclear ligando kappa-B (RANKL) producido por osteoblastos. Esta citoquina se une a su receptor en los osteoclastos conduciendo a la activación y maduración de los mismos y culmina en la resorción ósea.
Catepsina K (Cat K)	Proteasa secretada por osteoclastos activos durante el proceso de resorción ósea, que resulta en la degradación de la matriz ósea y la ruptura de componentes minerales del tejido óseo.
Hormona paratiroidea (PTH)	Cumple un rol importante en la formación ósea aumentando de forma indirecta la proliferación de osteoblastos a través de la regulación de la homeostasis del calcio.

y el ácido zoledrónico [intravenoso] han demostrado aumentar la DMO y disminuir el riesgo de fracturas en OPMPM y OPIGC.

Se desconoce la duración óptima del tratamiento con BP, y la interrupción o el descanso se aconsejan según la relación riesgos/beneficios. Se acumulan en hueso y continúan liberándose por meses o años luego del cese del tratamiento. El reinicio de este debe hacerse de forma individualizada, luego de una reevaluación.<sup>8,9</sup>

**Moduladores selectivos del receptor estrogénico (SERM)**

Raloxifeno: se une a los receptores estrogénicos aumentando la expresión de los genes dependientes de los mismos y reduce, así, la resorción ósea en OPMPM. Constituye la primera línea de tratamiento en pacientes que tienen un riesgo reducido de fractura de columna vertebral, únicamente. Debido a sus efectos antagonistas selectivos en el tejido mamario, su uso debe ser considerado especialmente en mujeres que, además, presenten riesgo aumentado de desarrollar cáncer de mama. Se usa, también, como terapia anti-resortiva débil durante un receso farmacológico.

Tibolona: es un fármaco que interacciona y potencia de forma variable los receptores de estrógenos, progesterona y de andrógenos.<sup>8</sup>

**Estrógenos conjugados/ bazedoxifeno:**

La combinación de estrógenos conjugados con bazedoxifeno (Duavee, Pfizer) recibió la aprobación de la FDA para el uso en OPMPM con útero intacto para la prevención de osteoporosis y el tratamiento de síntomas vasomotores de moderados a severos. Esta aprobación se basó en 3 en-

sayos clínicos que demostraron reducción de los sofocos, producto de la menopausia, y el aumento de la DMO en cadera y columna en MPM, en comparación con el placebo<sup>1</sup>. Sin embargo, su eficacia real en OPMPM sigue sin aclararse por falta de datos sobre fracturas, si bien se produjeron reducciones significativas de marcadores séricos de recambio óseo BTM (*bone turnover markers*) en comparación con el placebo.

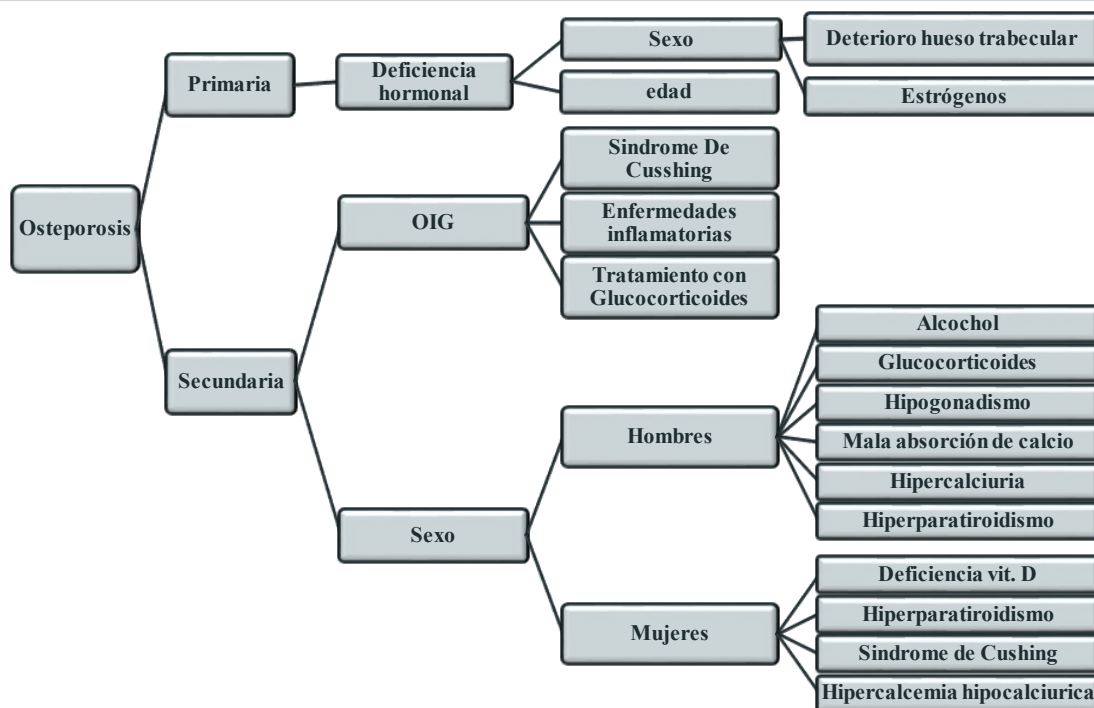
**Biofármacos en OP**

**Análogo de la hormona paratiroidea**

Teriparatida: es un análogo recombinante de la fracción 1-34 de la parathormona humana (PTH) y el primer tratamiento anabólico, aprobado en 2002 (FDA), para la terapéutica en OP. Se produce por fermentación de bacterias recombinantes que contienen el gen del péptido humano. Se administra de forma intermitente en pequeñas dosis y favorece la formación de hueso nuevo en la superficie del mismo por estimulación osteoblástica.

Neer y col. estudiaron los efectos de teriparatida 20 mcg, teriparatida 40 mcg y placebo en 1326 OPMPM durante 21 meses. Se informó disminución en nuevas fracturas vertebrales y no vertebrales con aumentos en la DMO vertebral, femoral y corporal total. Saag y col. compararon la eficacia de la teriparatida con el alendronato en 428 hombres y mujeres con OIG, de 22 a 89 años de edad, en un ensayo doble ciego aleatorizado de 18 meses. Se informó aumento en la DMO en columna vertebral y cadera con menos fracturas vertebrales nuevas significativamente en los pacientes que usaron teriparatida. En los casos con alto riesgo de fractura,

**Figura 1.** Etiología primaria y secundaria de la osteoporosis.<sup>1</sup>



**Tabla II.** Fármacos, prescripción, mecanismos de acción, presentación farmacéutica y dosis duración del tratamiento o resultados de ensayos clínicos.<sup>1</sup>

Tipo de fármaco	Prescripción / mecanismo de acción	Presentaciones farmacéuticas / dosis	Duración del tratamiento establecido / datos ensayo clínico
<b>Bifosfonatos</b>			
Alendronato	Prevención y tratamiento de OPM, hombres y OIG. Análogo estructural de los pirofosfatos de hueso que se une preferentemente a sitios de resorción ósea activa	Tabletas orales, efervescentes; formulación combinada con vitamina D. 10 mg / día	Se desconoce la duración óptima.
Risedronato	Prevención y tratamiento de OPM, hombres y OIG. Alta afinidad hacia los cristales de hidroxiapatita.	Tabletas orales; formulaciones de liberación inmediata y retardada. 5 mg / día	Saber cuándo es necesario discontinuar o tomarse un descanso (si los riesgos superan los beneficios).
Ibandronato	Posee afinidad por la hidroxiapatita.	Tabletas orales, inyecciones intravenosas. 150 mg / mes	Decisión de reiniciar tratamiento de forma individualizada
Ácido zoledrónico	Prevención y tratamiento de OPM, hombres y OIG. Afinidad hacia los cationes divalentes; se acumula en el hueso e impide la resorción ósea por parte de los osteoclastos	Inyecciones intravenosas. 5 mg / día	Terapia Anual
<b>SERM (Moduladores Selectivos del Receptor Estrogénico)</b>			
Raloxifeno	-Pacientes que requieren riesgo reducido de fractura de columna vertebral. -Mujeres con riesgo incrementado de padecer fracturas vertebrales, que podrían desarrollar cáncer de mama. -Terapia antiresortiva débil para pacientes con alto riesgo durante un receso farmacológico.	60 mg día	Estudio clínico MORE: Riesgo relativo acumulado de 4 años de 0,7 para nuevas fracturas vertebrales, y riesgo relativo de 0,9, no significativo para fracturas no vertebrales. Subestudio: aumento en la DMO de 2,1% y 2,6% en el cuello y la columna femoral. Riesgo relativo de 0,7, significativo para fracturas vertebrales y el riesgo relativo de 0,9, no significativo para fracturas no vertebrales.
<b>Estrógenos conjugados</b>			
Bazedoxifeno	Mujeres posmenopáusicas con útero intacto, para la prevención de osteoporosis. Tratamiento moderado a severo de síntomas vasomotores.		Estudios clínicos: 20 mg (monoterapia) reducen el riesgo de fractura vertebral en un 42%. - La administración de bazedoxifeno 20 mg y 40 mg redujo fracturas no vertebrales en mujeres con mayor riesgo, en un 40%. - Reducción de sofocos. - Aumento de DMO en cadera/columna, en posmenopáusicas. - Reducciones significativas de BTM séricos en comparación con el placebo.

no hubo diferencia significativa entre los grupos respecto de la incidencia de fracturas no vertebrales.

Durante los estudios preclínicos realizados con teriparatida, se observó el desarrollo de osteosarcoma (tumor óseo maligno) en ratas. Este efecto no se observó en ninguna otra especie ni en estudios clínicos posteriores. Sin embargo, el medicamento fue aprobado por la FDA con una etiqueta negra de advertencia sobre la posible producción de osteosarcoma.

Andrews y col. realizaron un estudio de farmacovigilancia durante 15 años, para evaluar la potencial asociación

entre tratamiento y efecto, con pacientes mayores de 40 años, diagnosticados con osteosarcoma. Se reportó fecha de diagnóstico, morfología y topografía del tumor, y se evaluaron, además, distintos factores de riesgo previos al diagnóstico como tratamientos con radiación, historia familiar, drogas utilizadas, posibles exposiciones ambientales, infecciones padecidas, información demográfica y breve historia clínica de cada uno. De los 1448 casos identificados con osteosarcoma, solo 549 presentaron el consentimiento correspondiente. No se encontraron reportes del uso de teriparatida previo al diagnóstico de osteosarcoma en ningún

caso, excepto en uno excepcional de un paciente con osteosarcoma preexistente al cual se le prescribió teriparatida.

Abaloparatide: es el segundo anabólico aprobado por la FDA (2017) y un análogo del péptido 1-34 de PTH. Si bien es similar a la teriparatida, al ser producidos ambos fármacos de forma diferente (uno es recombinante y el otro se obtiene por síntesis), el abaloparatide requirió ser analizado como droga nueva. En un ensayo clínico de fase 3, el abaloparatide redujo la incidencia de nuevas fracturas vertebrales en un 86 % durante un período de 18 meses; también redujo el riesgo de fractura no vertebral en un 43 %.

Se recomienda un tratamiento de hasta dos años con teriparatida o abaloparatide para la reducción de fracturas vertebrales y no vertebrales en OPMPM con alto riesgo de fracturas vertebrales graves o múltiples. Luego de haber completado el tratamiento con teriparatida o abaloparatide, se recomienda tratamiento con terapias antiresortivas para evitar la disminución de DMO.

Por otro lado, el abaloparatide está indicado en pacientes en quienes han fallado otras terapias disponibles para OP o son intolerantes a ellas y se indica la teriparatida para pacientes con dificultad de deglución y como opción para pacientes de alto riesgo que estén en descanso de la terapia con bifosfonatos.<sup>1,8</sup>

#### Anticuerpos monoclonales

Denosumab: es un anticuerpo monoclonal producido en forma recombinante, utilizando una línea celular de mamíferos (células de ovario de hámster chino). El anticuerpo reconoce al RANKL (ligando de receptor activador por el factor nuclear kappa B) e impide la activación de su receptor en la superficie de precursores de osteoblastos y osteoclastos maduros. La dosis recomendada es de 60 mg cada 6 meses. Representa la primera línea de tratamiento para pacientes con alto riesgo de fractura y para pacientes que no pueden utilizar terapias orales.<sup>21-23</sup> (Ver Tabla III)

Evaluación riesgo - beneficio de su administración: una limitación en el uso de denosumab es el riesgo de hipocal-

cemia debido a condiciones médicas concomitantes como malabsorción o enfermedad renal crónica (ERC). Sin embargo, a diferencia de los bifosfonatos, el denosumab puede ser administrado a pacientes con ERC, con precaución. Se deben controlar los niveles de calcio, magnesio y fósforo en suero en pacientes predispuestos a hipocalcemia y alteraciones del balance mineral dentro de los 14 días de inyección de denosumab. Además, se debe enfatizar la importancia de asegurar la ingesta adecuada de calcio y vitamina D antes de iniciar la terapia en pacientes con riesgo de hipocalcemia. Para esto, los niveles séricos de calcio se deben verificar antes de cada dosis de denosumab.<sup>8</sup>

En la figura 4, se describe el flujograma del tratamiento sugerido por la *European Society of Endocrinology* para pacientes con distintos grados de OP o riesgos de fracturas óseas.

#### Bioterapias aplicadas a la osteoporosis

El caso particular de la microbiota intestinal<sup>21-24</sup>: el término *microbiota intestinal* (MI) hace referencia a toda la población de microorganismos que habita en el intestino de un individuo y con el cual existe una relación simbiótica de beneficio mutuo.<sup>25-27</sup>

La flora del tracto gastrointestinal humano (TGIH) contiene cerca de cien billones de microbios, que convierten lo que es consumido en nutrientes que pueden atravesarlo e ingresar a la circulación. El contenido intestinal varía de acuerdo con cada persona, sin embargo, hay cuatro clases principales de bacterias que son consistentes en la mayoría de las microbiotas intestinales: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria*. Los *Bacteroidetes* y *Firmicutes* son las que comprenden más del 90 % de las categorías filogenéticas.

La relación *Firmicutes/Bacteroidetes* en la microbiota intestinal es un indicador de desregulación de diversos procesos biológicos (disbiosis). La definición y los efectos de probióticos y prebióticos se describen en las tablas 4 y 5, respectivamente.

**Tabla III.** Biofármacos. Denosumab, anticuerpo monoclonal aprobado por la FDA.

Biofármaco	Aprobado por la FDA para	Presentaciones farmacéuticas	Duración del tratamiento
Denosumab	Pacientes con alto riesgo de fractura. Pacientes que no pueden usar terapias orales. OPM con alto riesgo de fractura. Cáncer de mama con terapia con adyuvantes de inhibidores de la aromatasa. Pérdida ósea en hombres con osteoporosis. Hombres con cáncer de próstata medicados con terapia de privación androgénica.	Inyectable como jeringa prellenada o como vial de un solo uso.	60 mg por vía subcutánea cada seis meses. No se recomienda descanso farmacológico.

**Tabla IV.** Microbiota definiciones.

Microbiota intestinal	La flora del tracto gastrointestinal humano contiene cerca de cien billones de microbios. Estos microorganismos habitan en el intestino humano convirtiendo lo que es consumido en nutrientes que pueden atravesar el tracto gastrointestinal hacia la circulación. El contenido intestinal varía de acuerdo con cada persona, sin embargo, hay cuatro clases principales de bacterias que son consistentes en la mayoría de las microbiotas intestinales: <i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> y <i>Actinobacteria</i> . Los <i>Bacteroidetes</i> y <i>Firmicutes</i> son los que comprenden más del 90 % de las categorías filogénicas. La relación Firmicutes/Bacteroidetes en la microbiota intestinal es un indicador de desregulación de diversos procesos biológicos.
Probióticos	Microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino en cantidad suficiente como para alterar la microbiota intestinal del huésped, tanto por implantación como por colonización. <i>Lactobacillus</i> , bifidobacterias, <i>Streptococcus</i> , levaduras.
Prebióticos	Son fibras vegetales especializadas; actúan como fertilizantes que estimulan el crecimiento de bacterias sanas en el intestino y se encuentran en frutas y verduras.

### Relación entre la microbiota intestinal y OP

Se ha demostrado que la microbiota intestinal está fuertemente asociada al metabolismo óseo y a enfermedades metabólicas óseas, pero no se conocen todavía exactamente los mecanismos por los cuales se presentan estas relaciones. La relación *Firmicutes/Bacteroidetes* se correlaciona negativamente con el volumen óseo.<sup>28</sup>

La microbiota intestinal estaría regulando el metabolismo óseo a través de efectos en el sistema inmune, el sistema endócrino y la absorción de calcio. (Ver Figuras 2, 3 y Tabla VI)

Los estrógenos, además de estimular la formación de osteoblastos y mejorar la masa y la estructura ósea, cumplen una función clave en la barrera epitelial intestinal: son necesarios determinados niveles de estrógeno para que se estimule la expresión de proteínas de unión *tight junction* (TJ) a través de la vía Raf-MEK1 / 2-ERK1 / 2, de lo contrario, el aumento de la permeabilidad epitelial intestinal facilita la intrusión de patógenos e induce la activación del sistema inmune, provocando la activación de las células T CD4 + y TH17, que producen principalmente citoquinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . Estas citoquinas reducen aún más la producción de proteínas TJ a través de las vías Raf-MEK1 / 2-ERK1 / 2 y MLKs-MKK3/6-p38, comprometiendo

severamente la barrera epitelial intestinal y promoviendo la osteoclastogénesis, lo que lleva a un aumento de la resorción ósea cuya consecuencia es la pérdida ósea y destrucción microestructural.<sup>24</sup>

Los probióticos [Tabla IV], por su parte, pueden mejorar la barrera epitelial intestinal, al regular la producción y distribución de proteínas TJ disminuidas por la falta de estrógenos en mujeres posmenopáusicas, así como favorecer el crecimiento y el movimiento de células epiteliales intestinales. Por otro lado, tanto las bacterias intestinales beneficiosas como los niveles suficientes de estrógeno activan los linfocitos Tregs, productores de TGF- $\beta$ , que previene la osteoclastogénesis e induce la apoptosis de los osteoclastos.<sup>29</sup> Los antibióticos pueden eliminar la microbiota intestinal (MI) normal y promover el crecimiento de cepas resistentes que inducen inflamación y síntomas asociados. En los casos de disbiosis severa, se pueden utilizar trasplantes de microbiota fecal, posteriores al tratamiento con antibióticos, para corregir el crecimiento excesivo de *Clostridioides difficile* y promover el crecimiento de la microbiota normal; generalmente, se utilizan *Bacteroides* y *Lactobacilli*. La eliminación de especies de bacterias inductoras de inflamación, reemplazadas por flora inmunoprotectora reduce la respuesta inflamatoria y sus consecuencias.<sup>24,28</sup>

**Tabla V.** Suplementos alimentarios y sus efectos.

Suplementación Probiótica	La suplementación con <i>Lactobacilli reuteri</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Bacteroidetes</i> promueve la respuesta inmunoprotectora en el intestino. La respuesta inflamatoria reducida debería aminorar la tormenta de citoquinas y la reducción activa de la densidad ósea. La suplementación de estas bacterias para promover una microbiota intestinal normal provee efectos inmunoprotectores: IL-10.
Suplementación Prebiótica	Promueve el crecimiento de especies bacterianas que inducen la fermentación de carbohidratos no digeribles, incrementa los ácidos grasos de cadena corta, disminuye el pH de la microbiota intestinal y aumenta la absorción de calcio.

### Modelos animales utilizados en ensayos preclínicos y MI

La ovariectomía bilateral se usa para establecer estados mórbidos de PMO en la tibia proximal, fémur distal y vértebra lumbar, según las pautas para la evaluación preclínica y clínica de medicación de PMO de la FDA. Los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) también se usan para inducir PMO en roedores. Su administración a largo plazo o en dosis altas a ratas aisladas y libres de microorganismos inhibe la secreción de GnRH endógena, gonadotropina y estrógeno. La pérdida ósea inducida es reversible, ya que la masa y densidad ósea perdidas se recuperarían, parcialmente, luego de la interrupción del tratamiento. En este modelo en roedores, también aumenta la pérdida ósea, y se reducen la DMO y el volumen óseo en vértebras lumbares y huesos largos, lo que semeja las condiciones de pacientes con PMO. En ratas ovariectomizadas, tratadas con *Lactobacillus acidophilus o reuteri*, disminuyó el nivel de los marcadores de resorción ósea y la formación de osteoclastos fue inhibida. También se observó disminución en la expresión de citoquinas inflamatorias (TNF $\alpha$  e IL-1), aumento de los niveles de osteoprotegerina e inhibición en la formación de osteoclastos, con la administración de *Lactobacillus* y otros probióticos. La deficiencia de estrógenos destruye la diversidad microbiana intestinal, que se refleja como una reducción en las poblaciones de *Firmicutes*, incluyendo especies de *Clostridium*. Estas especies poseen efectos inmunorreguladores que estimulan la formación de células T reguladoras (Tregs) y mejoran su función, manteniendo la homeostasis. Por lo tanto, la deficiencia de estrógenos socava la diversidad microbiana intestinal y reduce la abundancia de bacterias intestinales que son propicias para la homeostasis inmune, lo que facilita la reproducción de bacterias patógenas iniciando una respuesta inmune.

Diversos estudios han confirmado la relación entre la MI y OP. La enfermedad inflamatoria intestinal puede aumentar el riesgo de OP, y se reportó que el probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) puede reducir la inflamación en el intestino y en los huesos, mejorar la impermeabilidad intestinal y prevenir la pérdida ósea.

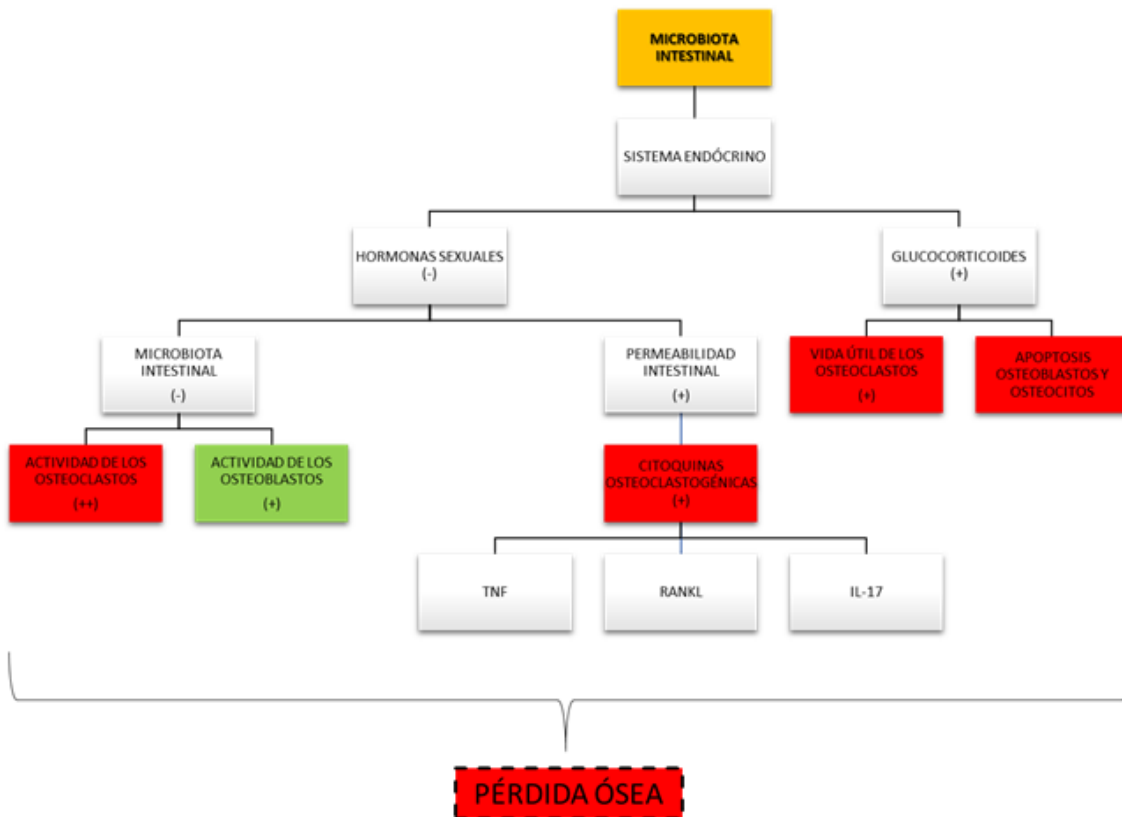
En un ensayo clínico doble ciego, utilizando un suplemento probiótico con múltiples especies de *Lactobacillus* (*casei*, *acidophilus*, *rhamnosus* y *bulgaricus*) y de *Bifidobacterium* (*longum*, *breve* y *Streptococcus thermophiles*), en OPMPM, se observó disminución en la resorción ósea a partir de las concentraciones de los biomarcadores óseos: i) fosfatasa alcalina específica de hueso, que es una fracción ósea producida por los osteoblastos (FAO) y ii) telopéptido carboxilo-terminal del colágeno tipo I, sérico y urinario (CTX), el cual es liberado en procesos de remodelado óseo. Esto indica menor actividad resorptiva ósea en comparación con el grupo placebo.<sup>35-37</sup>

La reducción de la masa ósea asociada a enfermedad inflamatoria intestinal se debe principalmente a una absorción de calcio insuficiente y a una disminución en los niveles de vitamina D y K. En ausencia de calcio, la vitamina D puede intensificar la resorción ósea, inhibiendo la mineralización ósea, manteniendo así la homeostasis de calcio sanguíneo a expensas de la masa ósea. Por lo tanto, agregar una cantidad de calcio a la dieta puede ayudar a tratar la inflamación y mantener la homeostasis de los microbios intestinales para prevenir la OP mediada por vitamina D.

Se realizó un análisis de diversidad de la microbiota intestinal en pacientes con OP y osteopenia (ON), usando secuenciación de ARN ribosómico 16S. Hubo una correlación inversa entre los estimadores de diversidad y la densidad ósea.

**Tabla VI.** Relación entre la microbiota intestinal, el sistema inmune, el sistema endocrino y la absorción de calcio que influye en el metabolismo óseo.

Sistema inmune	Estudios recientes revelaron una estrecha interrelación entre el sistema inmune y el sistema metabólico óseo, que lleva al desarrollo de la "osteoinmunología". La microbiota intestinal puede interactuar con el sistema inmunitario e influir en la salud del huésped. Ejemplo: Un estudio demostró que cuando se alteró el sistema inmune en ratones libres de gérmenes (citoquinas proinflamatorias de células T CD4) la masa ósea era mayor que en los ratones convencionales.
Sistema endócrino	Estudios aseguran una alta relación y dependencia entre la microbiota intestinal y el sistema endócrino. Se demostró en experimentos en animales que la colonización de microbiota intestinal de un ratón libre de gérmenes aumentó significativamente los niveles séricos de IGF- 1, con evidencia de crecimiento óseo y normalización la masa ósea.
Absorción de calcio	El calcio es el componente mayoritario del hueso. La absorción del mismo puede ser facilitada por la vitamina D mediante las bombas de iones. Se ha demostrado que la microbiota intestinal ayuda y mejora la absorción de calcio en el intestino. Un estudio demostró que el consumo de probióticos y prebióticos, especialmente bacterias como <i>Lactobacillus</i> estimula la absorción de calcio por parte de los enterocitos.

**Figura 2.** Relación de la microbiota intestinal con el sistema endócrino.

En los grupos OP, ON y control, los cuatro filos dominantes incluyeron *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria*.

En las muestras de OP, los *Firmicutes* aumentaron y los *Bacteroidetes* disminuyeron significativamente, pero tuvieron la mayor proporción en todos los grupos. En el grupo control, los *Bacteroides*, *Faecalibacterium* y *Prevotella* correspondieron a más de la mitad de la comunidad bacteriana, mientras que en los grupos de ON y OP entre 5 y 11 géneros representaron el 50% de la comunidad bacteriana. Los géneros *Blautia*, *Parabacteroides* y *Ruminococcaceae* diferían significativamente entre OP y el grupo control.

*Lachnospiridium* y *Klebsiella* fueron más abundantes en OP y ON que en el control. El eje inmunoinflamatorio sostiene la hipótesis de ser el mediador entre el metabolismo de la microbiota intestinal y el hueso.<sup>29</sup>

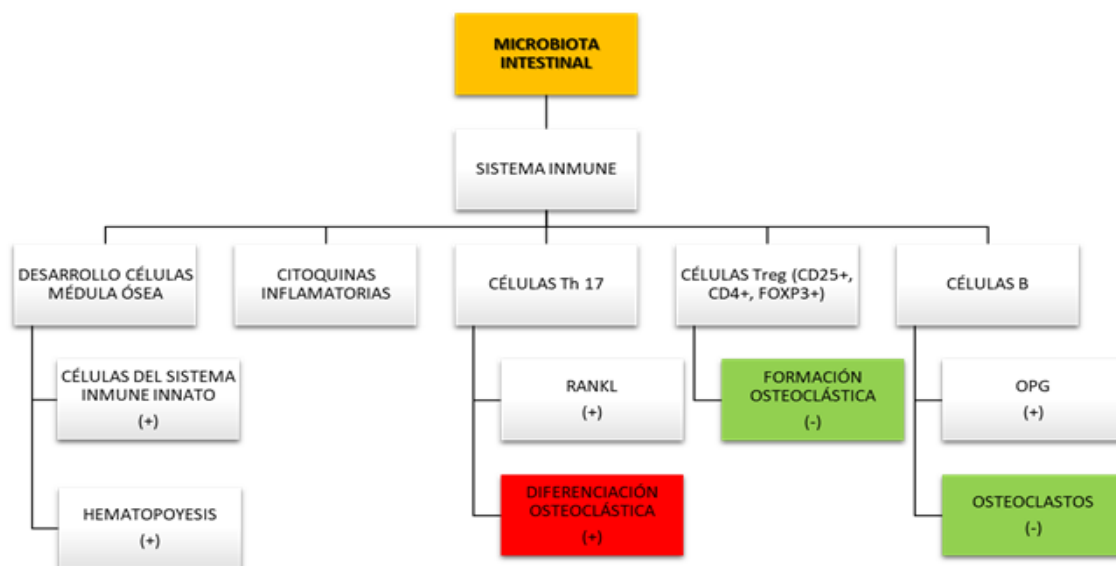
La investigación del rol de los probióticos en este tipo de patologías es muy reciente y no hay todavía suficientes estudios a largo plazo de los mecanismos con los que puedan involucrarse en el metabolismo óseo, pero los avances son promisorios.<sup>29</sup>

#### Biomarcadores en osteoporosis y osteosarcopenia

Anteriormente, se han descrito las características de la osteosarcopenia, que conducen a un aumento de riesgo de caídas y fracturas por fragilidad ósea. Una de las razones es la infiltración de grasas, evento en el cual el tejido adiposo

de la médula [MAT], el tejido adiposo intramuscular [IMAT] y los lípidos miointramiocelulares [IMC] segregan adipocitoquinas y ácidos grasos, que son tóxicos para las células cercanas a los adipocitos, y disminuyen, entonces, la formación de hueso con un efecto similar en fibras musculares. Esto se debe a la reducción de la capacidad de diferenciación de las células madre mesenquimales [MSC] para distinguirse en condrocitos y osteoblastos mientras aumenta su diferenciación como adipocitos causando la infiltración de grasas. Estos cambios en la capacidad de diferenciación dependen de factores como la edad, el estrés oxidativo, el balance hormonal y factores de crecimiento.

La adipogénesis de la médula y del músculo implica un número significativo de vías y factores de señalización como receptores activados por proliferadores de peroxisomas [PPAR], WNT, factores de crecimiento, mioquinas, osteoquinas, factores de intercambio de nucleótidos de guanina [GEF]-GAP-Rho, p66, la producción de especies de oxígeno reactivas [ROS] mitocondrial y la proteína quinasa C beta [PKC $\beta$ ], además de la liberación de adipocitoquinas. Sin embargo, la interrelación entre estas adipocitoquinas es compleja, por lo cual son necesarios más estudios y crear perfiles secretorios para IMC, MAT e IMAT a fin de lograr un seguimiento más específico. A pesar de esto, la identificación de una o varias adipocitoquinas secretadas por adipocitos de estos tres tipos de grasa podría convertirlos en biomarcadores robustos para osteosarcopenia, a futuro.

**Figura 3.** Relación de la microbiota intestinal con el sistema inmune.

Otros marcadores podrían surgir de la utilización de técnicas de imagen para visualizar, identificar y cuantificar el tejido graso. Las técnicas diagnósticas propuestas son:

- La absorciometría de rayos X de energía dual (DXA), que utiliza un nivel bajo de rayos X, que proporciona estimaciones de masa grasa, masa sin grasa y densidad ósea.
- La tomografía computarizada (TC): determina la distribución transversal del coeficiente de absorción de rayos X denominado *valor CT*; estos valores CT de ancho predefinido pueden analizarse manualmente o con *software* para diferentes tejidos.
- La TC cuantitativa periférica (pQCT) y la cuantitativa periférica de alta resolución son una alternativa a la TC con capacidad para cuantificar músculo, hueso, MAT e IMAT.
- La resonancia magnética (MRI) mide las diferencias en las propiedades de relajación de espín de los protones, en diferentes ambientes químicos. Puede generar imágenes con mayor contraste entre tejidos blandos y hueso que QCT, con un contraste mucho mayor entre músculo y grasa inter / intramuscular y MAT que las modalidades basadas en CT.
- La resonancia magnética periférica (pMRI) tiene ventajas similares a la resonancia magnética en términos de capacidad para diferenciar y cuantificar huesos, músculos y grasas (incluidos IMAT).

Las técnicas de imagen podrían desempeñar un papel importante en el diagnóstico de la osteosarcopenia, en la predicción de sus resultados adversos y en la respuesta a tratamientos. Sin embargo, una limitación importante de estos métodos es que carecen de capacidad para cuantificar la grasa IMC, que actualmente sólo puede ser cuantificada mediante tinción de biopsias musculares. Se espera que

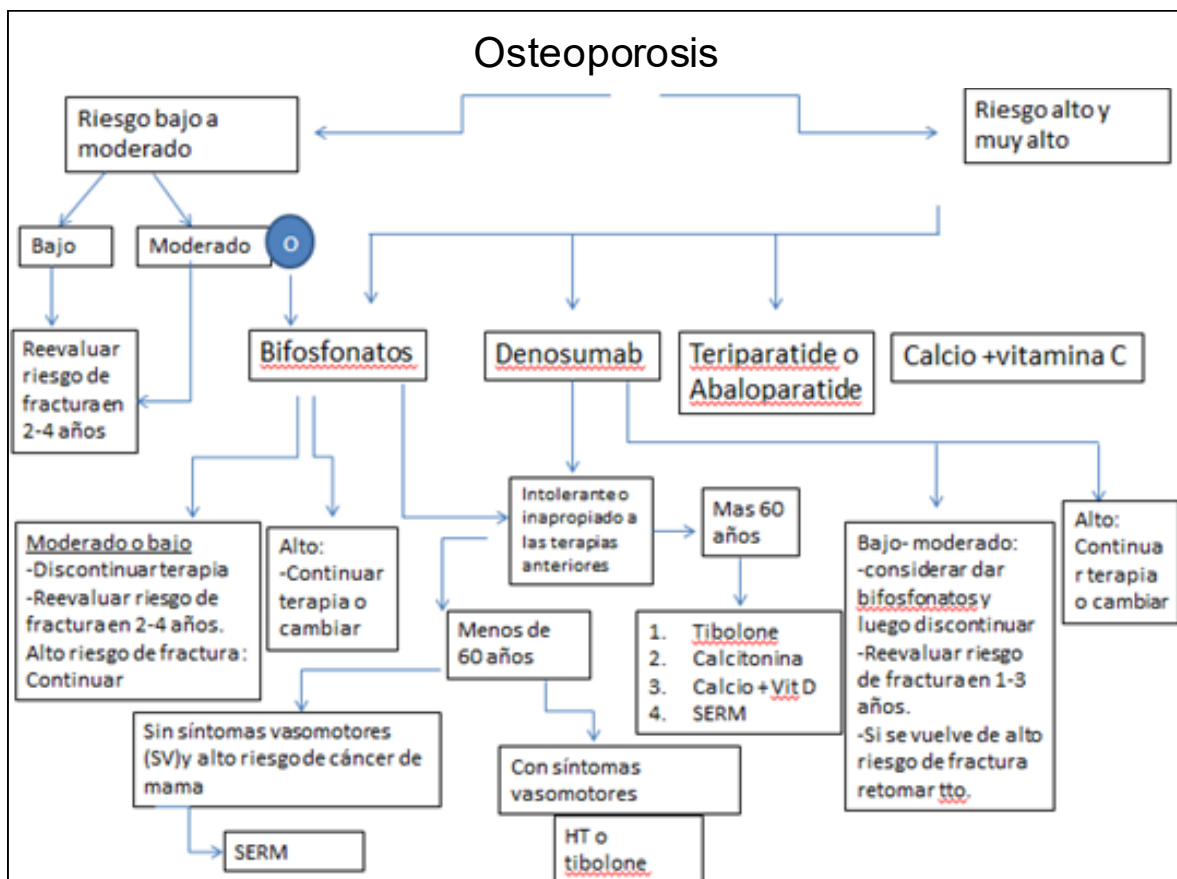
con la mejora de la resolución de las imágenes de MRI y QCT cuantificar IMC a través de estos métodos sea una posibilidad factible en un futuro cercano.

Para OP, un marcador muy utilizado es la DMO, que se estima para predecir el riesgo de fracturas en pacientes con esa patología, sin embargo, se han observado limitaciones al usarlo de manera aislada, ya que demuestra una sensibilidad disminuida, por lo cual es importante incluir más marcadores y factores de riesgo relevantes para aumentarla. A fin de lograr esto, se desarrolló en Reino Unido un algoritmo llamado *Fracture Risk Assessment Tool* (FRAX), mediante la realización de distintos metaanálisis con información epidemiológica relevante, para identificar el impacto cuantitativo de distintos factores de riesgo clínicos y poder determinar el riesgo de fracturas en un plazo de tiempo, a la vez que poder plantear relaciones de interdependencia entre varios factores de riesgo para utilizarlos en forma combinada en el uso clínico.<sup>36</sup>

Esta herramienta toma en cuenta la imagen, edad, sexo, peso y altura para calcular el índice de masa corporal, distintos factores de riesgo relevantes y la DMO, en caso de que estuviera disponible, y obtener la probabilidad del riesgo de fractura en los siguientes 10 años.

Una particularidad interesante de esta herramienta es que puede ser calibrada para la región en la cual se desea utilizar, en el caso de que se tuviese la información epidemiológica disponible. A pesar de la utilidad de esta herramienta, es importante aclarar sus limitaciones en algunas poblaciones con factores de riesgo y DMO particulares, ya que puede conducir a desviaciones en el cálculo de probabilidades, debido al número insuficiente de pacientes representativos, para poder obtener probabilidades coherentes.

**Figura 4.** Flujograma del tratamiento sugerido por la *European Society of Endocrinology* para pacientes con distintos grados de osteoporosis o riesgos de fracturas óseas.



Esto puede llevar a resultados extraños, como la presencia de algún factor de riesgo que disminuye la probabilidad del riesgo de fractura, cuando esto no debería ocurrir.<sup>37</sup>

**Discusión**

La biotecnología aplicada a la salud es transdisciplinaria y permite incorporar conceptos surgidos de las ciencias básicas a las aplicadas. En el presente trabajo, se investigó cuáles son los aportes de la biotecnología en relación con biofármacos, bioterapias y biomarcadores, dentro del estado del arte del diagnóstico y tratamiento de la OP.

En relación con el desarrollo y producción de biofármacos se destacan:

- La hormona paratiroidea rHuPTH 1-34 (teriparatida), un producto recombinante, producido en bacterias, primer anabólico aprobado para el tratamiento de la OP.
- El anticuerpo monoclonal denosumab, que se une específicamente a RANKL, bloquea la unión a su ligando, reduce notablemente la resorción ósea, aumenta la densidad ósea y reduce las fracturas.

En el entorno de las bioterapias, elegimos, en este artículo, profundizar sobre los hallazgos en la relación entre la microbiota intestinal y la OP, dado que lo consideramos un tema que vale la pena seguir y profundizar, ya que es un en-

foque preventivo que brinda un aporte desde un punto de vista diferente.

En relación con los biomarcadores, observamos que las adipocitoquinas y ácidos grasos producidos por los MAT, IMAT e IMC son un punto de interés, que se seguirá profundizando a través del desarrollo de los distintos sistemas de imágenes y algoritmos que permitan evaluar en profundidad su relación con el diagnóstico y seguimiento de la OP.

**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.

**Conflicto de intereses**

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés alguno.

**Referencias bibliográficas**

1. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: Concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest.* 2005; 115 (12): 3318–25.

2. Jeremiah MP, Unwin BK, Greenawald MH, Casiano VE. Diagnosis and Management of Osteoporosis. *Am Fam Physician*. 2015;15;92(4):261–8.
3. Kawamata A, Iihara M, Okamoto T, Obara T. Bone mineral density before and after surgical cure of Cushing's syndrome due to adrenocortical adenoma: Prospective study. *World J Surg*. 2008; 32(5):890–6.
4. Shahinian VB, Kuo YF, Freeman JL, Goodwin JS. Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. *N Engl J Med*. 2005; 13;352(2):154–64.
5. Cedeno-Veloz B, López-Dóriga Bonnardeaux P, Duque G. Osteosarcopenia: A narrative review. *Revista Espanola de Geriatria y Gerontología*. 2019;54(2): 103-8.
6. Paintin J, Cooper C, Dennison E. Osteosarcopenia. In: *Brit J Hosp Med*. 2018; 79 (5): 253–8
7. Eastell R, Rosen CJ, Black DM, Cheung AM, Murad MH, Shoback D. Pharmacological management of osteoporosis in postmenopausal women: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*; 2019; 104: 1595–622.
8. Crandall CJ, Newberry SJ, Diamant A, Lim YW, Gellad WF, Booth MJ, et al. Comparative effectiveness of pharmacologic treatments to prevent fractures: An updated systematic review. *Annals of Internal Medicine*. American College of Physicians; 2014; 161: 711–23.
9. Ensrud KE, Stock JL, Barrett-Connor E, Grady D, Mosca L, Khaw KT, et al. Effects of raloxifene on fracture risk in postmenopausal women: The raloxifene use for the heart trial. *J Bone Miner Res*. 2008; 23(1):112–20.
10. Formoso G, Perrone E, Maltoni S, Balduzzi S, Wilkinson J, Basevi V, et al. Short-term and long-term effects of tibolone in postmenopausal women., *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016; 10(10).
11. Silverman SL, Christiansen C, Genant HK, Vukicevic S, Zanchetta JR, De Villiers TJ, et al. Efficacy of bazedoxifene in reducing new vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis: Results from a 3-year, randomized, placebo-, and active-controlled clinical trial. *J Bone Miner Res* 2008;19(23):34.
12. Lindsay R, Gallagher JC, Kagan R, Pickar JH, Constantine G. Efficacy of tissue-selective estrogen complex of bazedoxifene/conjugated estrogens for osteoporosis prevention in at-risk postmenopausal women. *Fertil Steril* 2009; 92(3):1045–52.
13. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*; 2001;344(19):1434–41.
14. Saag KG, Shane E, Boonen S, Marin F, Donley DW, Taylor KA, et al. Teriparatide or Alendronate in Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *N Engl J Med*; 2007;357(20):2028–39.
15. Vahle JL, Sato M, Long GG, Young JK, Francis PC, Engelhardt JA, et al. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety. *Toxicol Pathol*; 2002; 30(3):312–21.
16. Vahle JL, Long GG, Sandusky G, Westmore M, ma YL, Sato M. Bone Neoplasms in F344 Rats Given Teriparatide [rhPTH(1-34)] Are Dependent on Duration of Treatment and Dose. *Toxicol Pathol*. 2004;32(4):426–38.
17. 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.
18. Miller PD, Hattersley G, Riis BJ, Williams GC, Lau E, Russo LA, et al. Effect of abaloparatide vs placebo on newvertebral fractures in postmenopausalwomen with osteoporosis a randomized clinical trial. *JAMA* 2016; 316(7):722–33.
19. Lamy O, Gonzalez Rodriguez E, Stoll D, Aubry-Rozier B, Livio F, Wu J, et al. Denosumab versus Zoledronic Acid for Men with Osteoporosis: A Review of Clinical Effectiveness and Guidelines. *Eur J Endocrinol [Internet]*. 2018 ;107(1):R31–45.
20. Smith MR, Egerdie B, Toriz NH, Feldman R, Tammela TLJ, Saad F, et al. Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med* . 2009 Aug 20;361(8):745–55.
21. Yatsofsky D, Pan K, Shendge VB, Liu J, Ebraheim NA. Linkage of microbiota and osteoporosis: A mini literature review.*World J Orthop*; 2019; 18 (10): 123–7.
22. Abboud M, Papandreou D. Gut microbiome, probiotics and bone: An updated mini review. *Maced J Med Sci*. 2019; 7:478–81.
23. Li JY, Chassaing B, Tyagi AM, Vaccaro C, Luo T, Adams J, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics. *J Clin Invest* 2016; 1;126(6):2049–63.
24. Collins KH, Paul HA, Reimer RA, Seerattan RA, Hart DA, Herzog W. Relationship between inflammation, the gut microbiota, and metabolic osteoarthritis development: Studies in a rat model. *Osteoarthr Cartil*. 2015; 1; 23(11):1989–98.
25. Yan J, Herzog JW, Tsang K, Brennan CA, Bower MA, Garrett WS, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016; 22;113(47):E7554–63
26. Thompson DD, Simmons HA, Pirie CM, Ke HZ. FDA Guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone*. 1995 Oct 17(4 Suppl):125S-133S.
27. DeLuca HF. Evolution of our understanding of vitamin D. In: *Nutrition Reviews* 2008; S73-87.
28. Van de Wiele T, Vanhaecke L, Boeckaert C, Peru K, Headley J, Verstraete W, et al. Human colon microbiota transform polycyclic aromatic hydrocarbons to estrogenic metabolites. *Environ Health Perspect*. 2005;113(1):6–10.
29. Al Saedi A, Hassan EB, Duque G. The diagnostic role of fat in osteosarcopenia. *J Lab Precis Med*. 2019; (4): 7-15
30. Bermeo S, Gunaratnam K, Duque G. Fat and bone interactions. *Curr Osteoporos Rep* 2014. 12: p. 235–42.
31. Singh L, Tyagi S, Myers D, Duque G. Good, Bad, or Ugly: the Biological Roles of Bone Marrow Fat. Vol. 16, *Curr Osteoporos Rep*; 2018. 16: 130–7.
32. Verma S, Rajaratnam JH, Denton J, Hoyland JA, Byers RJ. Adipocytic proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis. *J Clin Pathol*. 2002;55(9):693–8.
33. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int*; 2008;19(4):385–97.
34. Hu HH, Chen J, Shen W. Segmentation and quantification of adipose tissue by magnetic resonance imaging. Vol. 29, *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine [MAGMA]*. 2016; 29(2):259-76. .
35. Ogawa M, Lester R, Akima H, Gorgey AS. Quantification of intermuscular and intramuscular adipose tissue using magnetic resonance imaging after neurodegenerative disorders. Vol. 12, *Neural Regen Res*; 2017. 12(12):2100-2105.
36. Kanis JA, Harvey NC, McCloskey E, Bruyère O, Veronese N, Lorentzon M, et al. Algorithm for the management of patients at low, high and very high risk of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2020; 31(1):1–12.
37. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008;19(4):385–97.

# 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

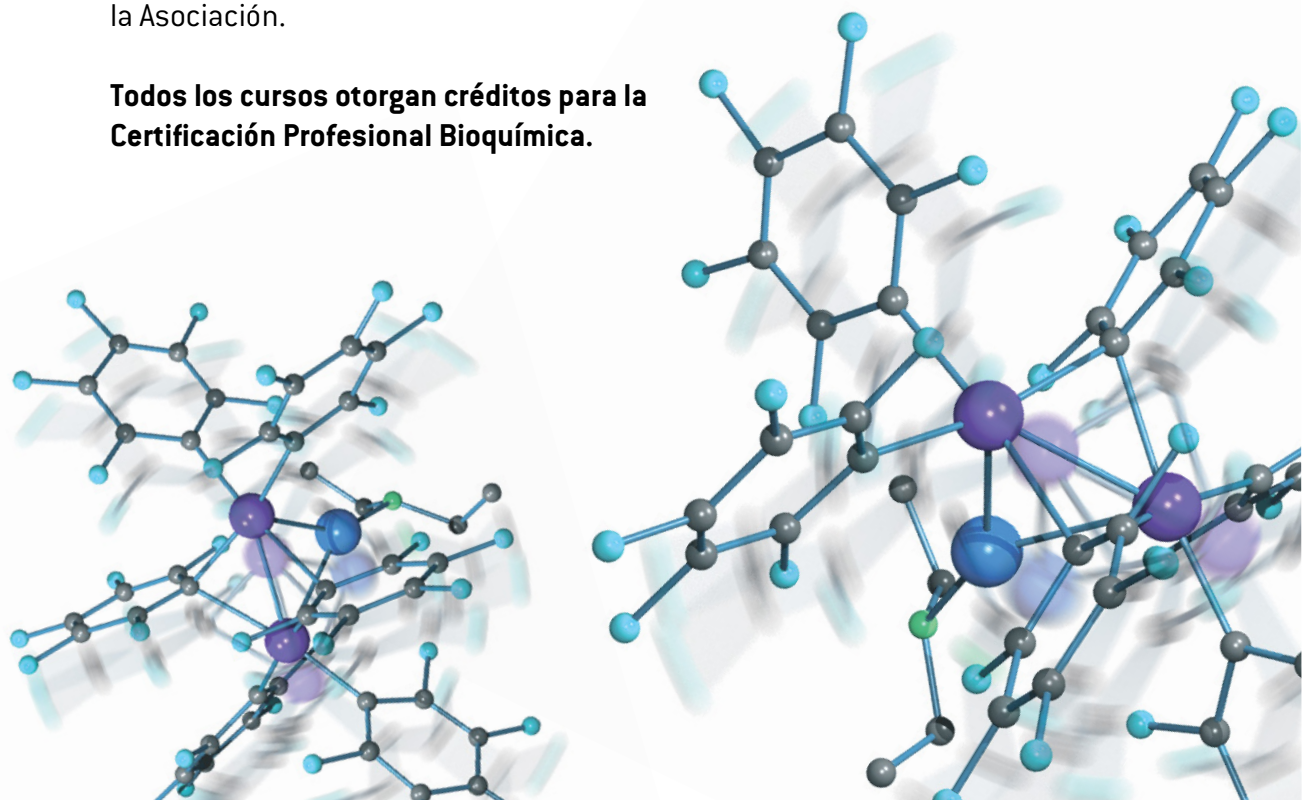
Tel: (011) 4381-2907 Telefax: (011) 4384-7415 - De 15 a 19 Hs.

**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 is Vol. 74, No. 2, 2010, featuring a portrait of Eugenia Sacerdote de Lustig and the text 'Personajes destacados: Eugenia Sacerdote de Lustig'. To the left is Vol. 74, No. 1, 2010, with a microscopic image and the title 'Médula ósea de paciente de 4 meses de edad con Síndrome de Chediak Higashi'. To the right is Vol. 75, No. 1, 2011, with a tango dancer and the title '69° Congreso Argentino de Bioquímica: Los Grandes Síndromes Clínicos: De la sospecha clínica al diagnóstico bioquímico molecular'. Other covers include 'Congreso Nacional Residentes Bioquímicos' and 'Revista de la Asociación Bioquímica Argentina'.

## 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 ENFERMEADES	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 <b>(NUEVO)</b>	26-Jun	TRIMESTRAL	Dra. Viviana Osta
<b>SEGUNDO SEMESTRE</b>				
	<b>NOMBRE DEL CURSO</b>	<b>INICIO 2023</b>	<b>DURACIÓN</b>	<b>DIRECTOR/A</b>
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 <b>(NUEVO)</b>	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 <b>(NUEVO)</b>	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 <b>(NUEVO)</b>	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 <b>(NUEVO)</b>	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr. Alberto Villagra
43	NORMAS ISO <b>(NUEVO)</b>	A confirmar	A CONFIRMAR	Dr. César Collino
44	BIOQUIMICA EN EL DEPORTE <b>(NUEVO)</b>	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.